

JUNHO DE 2017

- **MANUAL DE COLHEITAS**
- LABORATÓRIO NACIONAL DE REFERÊNCIA DA TUBERCULOSE

## 1. INTRODUÇÃO

O Manual de Colheitas é um documento de suporte à actividade de colheita, distribuído gratuitamente pelo Laboratório Nacional de Referência da Tuberculose (LNRT) em forma de papel, sendo que o Gestor da Qualidade do LNRT garante a sua actualização e distribuição. Trata-se de um documento controlado, que permite dar a conhecer aos utilizadores dos serviços deste laboratório sobre o funcionamento do LNRT e os procedimentos de colheita, conservação e transporte dos diferentes tipos de amostras usadas no diagnóstico laboratorial da tuberculose.

O LNRT funciona de 2ª a 6ª feira das 7:00 as 15:00 horas. No entanto, as amostras deverão ser entregues na recepção do mesmo das 7:00 às 9:00 horas. Em caso do pedido do utente (requisição e amostra) chegar depois desta hora, o LNRT recebe-o sob a possibilidade de processar no mesmo dia ou no dia seguinte. O laboratório não processa amostras de pedidos urgentes.

As amostras devem chegar a recepção do LNRT devidamente identificadas com etiqueta e acompanhadas de uma requisição validada pelo clínico ou entidade legalmente autorizada com o nome completo, sexo, idade, informação clínica do utente e requisição inequívoca das análises a efectuar, assim como o tipo de amostra, e quando colhida pelo clínico, informar a data e hora da colheita. No laboratório, as amostras são verificadas e protegidas salvaguardando-se a confidencialidade pessoal dos pacientes, dados e seus resultados. O LNRT não realiza quaisquer actividades que possam afectar a sua actuação com imparcialidade e independência, nem ceder a pressões internas ou externas indevidas de natureza comercial, financeira ou outras, susceptíveis de influenciar a prestação de serviços.

## Manual de Colheitas

Junho 2017, rev 04

LNRT

O LNRT pode rejeitar uma amostra sempre que esta tiver sido colhida de forma incorrecta, apresentar-se mal identificada ou conservada em condições inadequadas. São, portanto, considerados critérios de rejeição, os seguintes:

- Discrepância entre a identificação da amostra e a requisição;
- Falta de identificação do paciente na amostra;
- Frascos não apropriados;
- Frascos rachados;
- Amostra derramada;
- Frascos vazios;
- Requisição sem amostra/amostra sem requisição.

Podem ser processadas novos pedidos na mesma amostra enviada ao laboratório, desde que estes pedidos sejam feitos até 24 horas após a recepção da amostra no laboratório e as amostras estejam com a qualidade e quantidade suficiente para o pedido.

O tempo de resposta listado na tabela, refere-se à duração do exame laboratorial contados em dias úteis, que vai desde a recepção das amostras até à emissão do resultado.

É tão importante o cumprimento de requisitos técnicos para a colheita como estas amostras devem ser acondicionadas até ao seu processamento analítico. Assim, este Manual de Colheitas, prevê que as amostras devem ser conservadas à temperatura ambiente entre 16 a 30°C e em geleira entre 2 a 8°C ou em local seco e fresco, mediante o tipo de amostra – ver tabela.

O transporte de amostras para o LNRT deve-se efectuar em caixas térmicas de forma a evitar a deslocação das amostras no seu interior (Figura 1). Estas embalagens permitem a protecção das amostras à exposição directa da luz. As requisições devem ser enviadas de

## Manual de Colheitas

Junho 2017, rev 04

LNRT

forma protegida (dentro de um saco plástico), sem contacto directo com os produtos biológicos (Figura 2). Estes requisitos para o transporte da amostra devem ser cumpridos de forma a assegurar a integridade da amostra, a segurança para o transportador e para o ambiente.

São considerados valores de decisão crítica, Baciloscopias positivas de casos novos do HCM; GeneXpert positivo em casos novos; Culturas positivas em casos novos, qualquer resultado resistente detectado por GeneXpert, LPA ou TSA. Nestes casos, o LNRT comunica, de imediato, ao clínico ou ao utente e, em casos de resistência, ao PNCT (Programa Nacional de Controlo da Tuberculose).

O LNRT está acreditado por entidade externa, Instituto Português de Acreditação, para os ensaios de Pesquisa de Bacilos-Álcool-Ácido resistentes – Exame Directo por Microscopia de fluorescência com coloração de Auramina O, Pesquisa de *Mycobacterium tuberculosis* por exame cultural (em meio líquido MGIT) e Pesquisa de *Mycobacterium tuberculosis* por exame cultural (em meio sólido Lowenstein Jensen). Em Março de 2017 obteve a extensão da acreditação para mais 4 ensaios, a Pesquisa de Bacilos-Álcool-Ácido resistentes – exame por PCR – Tempo real (GeneXpert), Determinação da resistência à Rifampicina por PCR em tempo real, Identificação do complexo *Mycobacterium tuberculosis* por teste Imunocromatográfico e Pesquisa de bacilos álcool-ácido resistentes-exame direto com coloração de Ziehl Neelsen.

Para casos de dúvidas ou aconselhamento ou reclamações pode contactar os números 821925837 do LNRT 84 707 19 80 do Responsável do Laboratório ou ainda pelo endereço electrónico do laboratório: [laboratorio.referencia.tb@gmail.com](mailto:laboratorio.referencia.tb@gmail.com) ou [kie.azam@live.com](mailto:kie.azam@live.com).

## 2. COLHEITA

A colheita das amostras clínicas destinadas aos exames laboratoriais de Tuberculose (TB) no LNRT devem ser feitas usando material apropriado para cada tipo de amostra e exame, segundo os procedimentos apresentados na tabela abaixo.

A tabela seguinte apresenta 6 colunas:

- **1 – Tipo de TB e Análise/Método:** Refere o tipo de TB (a negrito), o nome das análises com o método de execução, quando aplicável.
- **2 – Tempo de resposta:** Refere o tempo de realização da análise em dias, que vai desde a recepção até a emissão dos resultados.
- **3 - Material de Colheita/Amostra:** Refere o material de colheita (a laranja) e a amostra (a negrito), o volume e modo de colheita.
- **4 – Transporte:** Indica as condições de transporte da amostra colhida
- **5 – Estabilidade:** Indica as condições estáveis da amostra para a realização das análises.
- **6 - “!”:** Coluna que mostra se há ou não necessidade de se fornecer uma instrução de colheita escrita para o tipo de TB e análise/método laboratorial. O símbolo “■” indica necessidade de fornecer instrução de colheita escrita.

# Manual de Colheitas

Junho 2017, rev 04

LNRT

| Tipo de TB e análises/métodos                                                                                                                                                                        | Tempo de resposta (dias) |     |      |        |             | Material de Colheita / Amostra                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Transporte                                                                                     | Estabilidade                                                           | !                                                                                   |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-----|------|--------|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                                                                                                                      | BK                       | CL# | LPA* | PCR GX | TSA (1 e 2) |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                |                                                                        |                                                                                     |
| <b>TB pulmonar</b> - Baciloscopia (BK), Exame Cultural em meio sólido de Lowenstein Jensen e meio líquido - MGIT; GeneXpert (PCRGX), Teste de Sensibilidade as Drogas (TSA), Line Probe Assay (LPA). | 2                        | 64  | 5    | 2      | 30          | <b>Frasco plástico, de boca larga, com 50 mm de diâmetro (Figura 3): Expetoração;</b> Volume 5 a 10 ml. Colher em dois dias consecutivos; a primeira antes do jantar e a segunda no dia seguinte ao acordar. Lavar a boca e em local arejado abrir o escarrador, forçar a tosse, inspirar profundamente, prender a respiração e escarrar no frasco. Registrar a hora de cada colheita.                            | ≤ 1 dia, temperatura ambiente, ao abrigo da luz<br><br>≤ 1 dia da província para LNRT, 2 a 8°C | ≤ 4 dias e mantido a 2 a 8°C, manter ao abrigo da luz em local fresco. |  |
|                                                                                                                                                                                                      | 2                        | 64  | 5    | 2      | 30          | <b>Frasco plástico, de boca larga, com 50 mm de diâmetro (Figura 4): Expetoração induzida;</b> Volume 5 a 10 ml. Devem ser bebidos muitos líquidos, de preferência água, no dia anterior à colheita. Sobre orientação médica, usar um nebulizador ultra-sônico com solução salina e hipertônica a 3% durante 5 a 20 minutos. Deve ser colhido em condições de biossegurança para evitar contaminação do ambiente. | ≤ 1 dia, temperatura ambiente, ao abrigo da luz<br><br>≤ 1 dia da província para LNRT, 2 a 8°C | ≤ 4 dias e mantido a 2 a 8°C, manter ao abrigo da luz em local fresco. |                                                                                     |

# Manual de Colheitas

Junho 2017, rev 04

LNRT

|                                                                                                                                                                                                   |   |    |   |   |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                   |                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|----|---|---|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|----|
|                                                                                                                                                                                                   | 2 | 64 | 5 | 2 | 30 | <p><b>Frasco plástico, de boca larga, com 50 mm de diâmetro:</b></p> <p><b>Lavado gástrico</b>, Volume 50 ml. Requer hospitalização. Em jejum de 8 a 10 horas antes, logo de manhã, antes de levantar, realizado com sonda nasogástrica fina, introduzida pelo nariz ou boca, injetar 10 a 15 ml de soro fisiológico, esperar 30 min e fazer a lavagem.</p> | ≤ 1 hora, temperatura ambiente                    | ≤ 4 horas e mantido a 2 a 8°C. (deve ser entregue no dia da colheita) | -- |
|                                                                                                                                                                                                   | 2 | 64 | 5 | 2 | 30 | <p><b>Frasco estéril: Lavado brônquico</b>, 5 mL. Sobre orientação médica, uso do broncofibroscópio, não usar substâncias anestésicas pois são letais para a micobactéria. A sala deve comportar condições de biossegurança.</p>                                                                                                                            | ≤ 4 horas, temperatura ambiente, ao abrigo da luz | ≤ 24 horas, 2-8°C.                                                    | -- |
| <p><b>Extra pulmonares</b></p> <p>Baciloscopia (BK), Exame Cultural (meio sólido de Lowenstein Jensen e meio líquido - MGIT); Teste de Sensibilidade às Drogas (TSA), Line Probe Assay (LPA).</p> | 2 | 64 | 5 | 2 | 30 | <p><b>Frasco estéril: LCR</b>, volume mínimo de 5 ml. Realizado por procedimento médico, recomendado jejum, feito por punção lombar.</p>                                                                                                                                                                                                                    | ≤ 15 min, temperatura ambiente                    | ≤ 24 horas, temperatura ambiente.                                     | -- |
|                                                                                                                                                                                                   | 2 | 64 | 5 | 2 | 30 | <p><b>Frasco estéril: Líquido pleural, sinovial, peritonal e outros.</b> Volume mínimo ≥10 mL. Realizado por procedimento médico, punção pela via percutânea ou cirúrgica, não usar corantes ou fixador.</p>                                                                                                                                                | ≤ 15 min, temperatura ambiente                    | ≤ 24 horas, temperatura ambiente.                                     | -- |

# Manual de Colheitas

Junho 2017, rev 04

LNRT

|  |   |    |   |     |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                      |                                                                                  |                                                                                     |
|--|---|----|---|-----|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
|  | 2 | 64 | 5 | --- | 30 | <b>Recomenda-se inocular diretamente em frasco de meio de cultura ou frasco estéril: Medula óssea</b> , volume mínimo $\geq 10$ mL, Realizado por procedimento médico, com anticoagulante, Punção venosa, não usar EDTA como anticoagulante.                                                                                                                                                                                                      | $\leq 2$ horas, temperatura ambiente | $\leq 24$ horas, temperatura ambiente.                                           | --                                                                                  |
|  | 2 | 64 | 5 | 2   | 30 | <b>Frasco estéril, zaragatoa imersa em água destilada ou solução salina: Pús e Secreções</b> . De cavidades fechadas por punção, cavidades abertas com zaragatoa. Pode ser feito uma aspiração com agulha fina.                                                                                                                                                                                                                                   | $\leq 2$ horas, temperatura ambiente | $\leq 24$ horas, temperatura ambiente.                                           | --                                                                                  |
|  | 2 | 64 | 5 | --- | 30 | <b>Frasco estéril de boca larga com tampa de rosca: Urina</b> , volume mínimo de 40 ml. Após a higiene com água e sabão neutro, colher para 2 tubos Falcon e no máximo de 4 tubos, em 2 dias consecutivos, toda a 1ª micção da manhã. Cada amostra colhida deve ser entregue no laboratório no dia da colheita, sendo que a segunda amostra deve ser entregue no dia da marcação para a entrega do resultado da baciloscopia da primeira amostra. | $\leq 2$ horas, temperatura ambiente | $\leq 4$ horas ou centrifugar e neutralizar o precipitado, conservar de 2 a 8°C. |  |
|  | 2 | 64 | 5 | --- | 30 | <b>Frasco de boca larga sem conservante: Fezes</b> . 25g, correspondente a uma pequena colher. Colher de preferência antes da medicação.                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | $\leq 1$ hora, temperatura ambiente  | $\leq 24$ horas, 2 a 8°C.                                                        | --                                                                                  |

#- A cultura líquida (TR 44 dias) e sólida (TR 64 dias) é feita em simultâneo, por esse motivo é indicado o tempo de resposta maior, no entanto caso se obtenha um resultado satisfatório pela cultura líquida o mesmo será emitido no respectivo TR.

\*- Cinco dias após baciloscopia positiva; Cinco dias após cultura positiva para casos de baciloscopia negativa.

O TSA (1 e 2) são 30 dias após cultura positiva e identificada como M. tuberculosos.

**Figura 1:** Exemplo de caixa térmica para envio de amostras interlaboratoriais.



**Figura 2:** Exemplo de saco plástico para embalar requisição.



**Figura 3:** Frasco de plástico com tampa rosca.



Cópia Colada

## Manual de Colheitas

Junho 2017, rev 04

LNRT

### Referências Bibliográficas

- Ministério da Saúde, Secretaria de vigilância em Saúde, Centro de referência Professor Hélio Fraga (2005). Manual de Bacteriologia da Tuberculose. Rio de Janeiro 3ª edição.
- Garner, J.S. (1996). The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee - Guideline for Isolation Precautions in Hospitals. Infect. Control Hosp. Epidemiol. , 17:53-80.
- Organização Panamericana da Saúde; Organização Mundial da Saúde (2008). Manual para Diagnóstico Bacteriológico da Tuberculose. Parte 1.
- NP EN ISO 15 189:2014

Maputo, 06 de Junho de 2017

O Responsável do Laboratório

