



LE MICRO

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO

LABORATÓRIO LE MICRO 2022
lemicro@laboratoriolemicro.com

PROCEDIMENTO DE COLETA DE MATERIAL PARA CULTURA

INSTRUÇÕES PARA COLETA DE HEMOCULTURA:

✓ Técnica para coleta:

- Higienizar as mãos.
- Preparar o material, dispor a etiqueta de identificação no frasco, anotando o nome do paciente, leito, data, hora e local de coleta (sítio anatômico).
- Limpar a tampa de borracha com algodão embebido em álcool 70%. Manter o algodão sobre o frasco até o momento da punção ou proceder conforme as instruções do fabricante.
- Escolher o melhor local de punção para a coleta de sangue. Colocando o garrote e apalpando livremente as veias do paciente para escolher a mais calibrosa e menos móvel. Soltar o garrote.
- Fazer a antisepsia com álcool a 70% utilizando algodão ou gaze. Esperar cerca de 30 segundos para secar, repetir o procedimento por mais uma vez e aguardar secar.
- Colocar novamente o garrote e puncionar a veia com agulha e seringa ou dispositivo para coleta a vácuo, sem tocar diretamente no local de punção.
- Coletar de 5 a 10ml de sangue (adultos) ou de 0,5 a 3ml de sangue (crianças) para cada frasco. Para crianças ver tabela abaixo.
- Ao retirar a agulha, fazer compressão local com algodão seco, sem flexionar o braço.
- Transferir a amostra para os frascos de hemocultura. **(NÃO PRECISA TROCAR AGULHA)**
- Dispensar o material de punção em local apropriado (caixa de perfurocortante).
- Lavar as mãos.

Observações importantes:

Se a amostra for obtida a partir de cateter vascular, deve ser realizada a antisepsia do local a ser puncionado com álcool 70%.

A técnica de coleta de sangue através de cateteres deve ser utilizada somente para o diagnóstico de infecções relacionadas ao dispositivo e deverá sempre ser acompanhada de uma amostra de sangue periférico.

Punções arteriais não trazem benefícios na recuperação dos micro-organismos.

Não se recomenda a troca de agulhas entre a coleta e a distribuição do sangue nos frascos específicos.

Volume de sangue coletado por frasco: quanto maior o volume de sangue inoculado no meio de cultura, melhor a recuperação de micro-organismos. Entretanto, excesso de sangue, em desproporção com o meio pode inibir o crescimento de microrganismos.

- Para crianças, o volume ótimo de sangue ainda não está bem definido, mas dados da literatura demonstram que há uma relação direta entre o volume de sangue obtido e a detecção de infecção, – indicando que amostras de sangue com volume maior ou igual a 1ml detectaram mais bacteremias que amostras com volumes inferiores a 1 ml.

INSTRUÇÕES PARA PONTA DE CATETER

- Lavar as mãos e calçar luvas de procedimentos.
- A pele ao redor do cateter deve ser cuidadosamente desinfetada com álcool a 70%. Após a secagem (cerca de 30 segundos a 1 minuto), o cateter é removido cuidadosamente. O excesso de antisséptico sobre a pele pode ser removido, ao final, com álcool 70%.
- **O segmento distal (que estava inserido na veia do paciente), de aproximadamente 5 cm, é assepticamente cortado com auxílio de tesoura estéril, colocado em um frasco estéril seco, e remetido em um prazo máximo de 1 hora ao laboratório.**

INSTRUÇÕES PARA SECREÇÃO TRAQUEAL

- A coleta desse material é realizada em pacientes intubados, através de sonda de aspiração.
- Introduzir a sonda de aspiração estéril de calibre adequado através do tubo endotraqueal até encontrar resistência. Recolher 1-2cm da sonda e aplicar sucção para obter a amostra.
- Não instilar soluções pois alterará a contagem de microrganismos.
- Coletar em frasco estéril de preferência com sistema de sucção acoplado ao frasco e enviar imediatamente ao laboratório.
- Volume mínimo para cultura aeróbia é de 1 ml, para pesquisa e cultura para fungos e micobactérias, o volume mínimo é de 5-10ml.
- **Não processar swab traqueal como aspirado traqueal.**

INSTRUÇÕES PARA LAVADO BRONCO-ALVEOLAR

- Método recomendado para o diagnóstico etiológico das pneumonias associadas à ventilação mecânica e em pacientes imunodeprimidos, sendo considerado o método mais fidedigno para investigação microbiológica do trato respiratório inferior.
- O tempo do transporte da amostra é essencial, devendo estar em torno de 30 minutos. Nunca ultrapassar 2 horas, pois há multiplicação bacteriana nesse material.
- A coleta deve ser feita preferencialmente antes de biópsias, para se evitar excesso de sangue.
- Esse procedimento deve ser realizado por equipe médica especializada.

INSTRUÇÕES PARA COLETA DE SECREÇÃO DE OROFARINGE

- Solicitar ao paciente que abra bem a boca.
- Evitar tocar na língua e na mucosa bucal.
- Procurar o material nas áreas com hiperemia próximas aos pontos de supuração ou remover o pus ou a placa, coletando o material abaixo da placa.
- Coletar a amostra exatamente na área inflamada, evitando outros sítios na cavidade oral.
- Coletar um swab, um para o cultivo, transportado em meio de transporte adequado (Stuart).

INSTRUÇÕES PARA ABSCESSOS, FERIDAS E EXSUDATOS

- O termo “secreção de ferida” não é apropriado como informação da origem do material coletado.
- O sítio anatômico específico, bem como as informações adicionais (material de ferida superficial ou profunda), são extremamente valiosos para o laboratório, auxiliando na interpretação dos resultados.
- As margens e superfície da lesão devem ser descontaminadas com solução de PVPI aquoso e soro fisiológico (metade/metade).
- Proceder a limpeza com solução fisiológica.

- Coletar o material purulento localizado na parte mais profunda da ferida, utilizando-se, de preferência, aspirado com seringa e agulha. Quando a punção com agulha não for possível, aspirar o material somente com seringa tipo insulina.
- **Swabs (menos recomendados) serão utilizados quando os procedimentos acima citados não forem possíveis.**
- **A escarificação das bordas após antissepsia pode produzir material seroso que é adequado para cultura.**

Observações:

- A descontaminação da superfície das lesões ou abscessos abertos, antes da coleta do material, é crítica para interpretação do resultado.
- Não coletar o pus emergente. O material das margens da lesão, a região livre de necrose e a parte mais profunda do sítio escolhido são mais representativos e possuem maior viabilidade de microrganismos.
- Caso não se consiga colher o exsudato, orienta-se a remoção de crostas e a coleta do material imediatamente abaixo, nunca das lesões secas ou crostas.
- A coleta de ferida de queimadura deve ser realizada após extensa limpeza e desbridamento da lesão. Nesse caso, a biópsia da pele é a técnica mais recomendada.

INSTRUÇÕES PARA SECREÇÃO DE OUVIDO

Conduto auditivo externo e médio:

- Remover secreção superficial com um *swab* umedecido em salina estéril e com outro *swab* obter material fazendo rotação no canal.
- Inserir, em seguida, o *swab* no meio de transporte (Stuart), repetir o procedimento com um segundo *swab* para a confecção de lâmina para microscopia.

Conduto auditivo interno:

- Membrana timpânica rompida: o médico deve proceder como no item anterior e com espéculo ou cone de otoscopia coletar material com *swab* e em seguida inserir no meio de transporte. Com outro *swab*, fazer esfregaço para coloração Gram.
- Membrana íntegra: procedimento médico: usar seringa para puncionar a membrana ou sistema apropriado para aspiração e coletor, que deverão ser encaminhados imediatamente ao laboratório para processamento ou introduzir em meio de transporte (coletor estéril) para conservação e fazer lâmina para bacterioscopia.

INSTRUÇÕES PARA SECREÇÃO OCULAR

- As culturas deverão ser coletadas antes da aplicação de antibióticos, soluções, colírios ou outros medicamentos.
- Desprezar a secreção purulenta superficial e, com *swab*, coletar o material da parte interna da pálpebra inferior. Encaminhar ao laboratório em meio de transporte apropriado (Stuart).

INSTRUÇÕES PARA COLETA DE LÍQUOR

- Antes da realização da coleta, a equipe de enfermagem deve entrar em contato com laboratório e solicitar o **KIT PARA COLETA DE LCR**.
- Proceder a antisepsia no sítio da punção com clorexidina alcoólica
- Após a coleta armazenar a amostra no kit destinado para coleta de LCR disponível no laboratório. O mesmo dispõe de 4 tubos devidamente enumerados, que devem seguir a ordem após a coleta. Tubo 1 (Citologia), Tubo 2 (Bioquímica), Tubo 3 com Agar Chocolate, Tubo 4 com Agar Saboraud.
- Caso a coleta permita somente a disponibilidade de um tubo, o laboratório de microbiologia deverá ser o primeiro a manipulá-lo.
- Nunca refrigerar a amostra.
- Transportar a amostra imediatamente ao laboratório, acompanhada de pedido médico adequadamente preenchido.
- Os exames a serem realizados devem ser especificados e priorizados de acordo com o volume coletado.

INSTRUÇÕES PARA COLETA DE LÍQUIDO PLEURAL, PERITONEAL, PERICÁRDICO E SINOVIAL.

- Procedimento realizado por equipe médica especializada, utilizando técnica antisséptica de coleta.
- Proceder a antisepsia no sítio da punção com clorexidina alcoólica.
- Obter a amostra através de punção percutânea ou cirúrgica.
- Quanto maior o volume da amostra, maior a probabilidade de isolamento do agente etiológico.



LE MICRO

- Encaminhar o líquido coletado em frasco seco e estéril ou inoculado diretamente nos frascos de hemoculturas, respeitando a proporção entre material e meio de cultura de no máximo 1 parte de líquido em 9 partes de meio de cultura (1:10). Nesse caso, reservar volume para a confecção da lâmina para microscopia ou para outros exames (citológico, sorológico, etc.).
- Transportar imediatamente ao laboratório, com a orientação do tipo de cultura (aeróbia, anaeróbia, fungos, micobactérias, etc.)
- Nunca refrigerar.

INSTRUÇÕES PARA COLETA DE TECIDO ÓSSEO

- Obter amostra óssea representativa através de biópsia ou curetagem com cuidados de antisepsia.
- Colocar num recipiente estéril contendo solução fisiológica.
- Transporte rápido ao laboratório.
- **Não usar formalina.**

INSTRUÇÕES PARA COLETA DE MATERIAL UROGENITAL

✓ Secreção vaginal:

- Higienização da genitália externa com água e sabão neutro.
- Inserir um espécuro (sem lubrificante, usar somente água morna) na vagina.
- Retirar o excesso de muco cervical com swab de algodão.
- Inserir os swabs indicados, rodar por alguns segundos sobre o fundo do saco, retirar e voltar aos meios indicados: meio de Stuart para bactérias e fungos. Utilizar o caldo Todd- Hewit para pesquisa de *S. agalactiae* de amostra do intróito vaginal.
- Swab seco: realizar as lâminas para bacterioscopia da secreção fresca.

✓ Secreção endocervical:

- Inserir um espécuro na vagina e retirar o excesso de muco cervical com swab de algodão.
- Inserir os swabs indicados no canal endocervical até a ponta do swab não ser mais visível.



LE MICRO

- Rodar por alguns segundos, retirar evitando o contato com a parede vaginal e voltar aos meios indicados:
- *Swab* para inserir no meio de transporte de Stuart para cultura de *N. gonorrhoeae*.
- *Swab* seco: realizar as lâminas para bacterioscopia da secreção fresca.
- ✓ Secreção uretral:
- Desprezar as primeiras gotas da secreção.
- Coletar a secreção purulenta, de preferência pela manhã, antes da primeira micção ou há pelo menos duas horas ou mais, sem ter urinado.
- Coletar com alça bacteriológica descartável ou swab estéril fino.
- Colocar a amostra em meio de transporte (Stuart) e realizar as lâminas para bacterioscopia da secreção fresca.
- Encaminhar imediatamente ao laboratório.
- Em pacientes assintomáticos, deve-se coletar a amostra através de massagem prostática ou com pequeno *swab* inserido alguns centímetros na uretra.

obs.: o sucesso da cultura depende da rapidez na entrega da amostra.

INSTRUÇÕES PARA COLETA DE URINA

A coleta deve ser feita pela manhã, preferencialmente da primeira micção do dia, ou então após retenção vesical de duas a três horas. Pacientes com urgência urinária podem ser dispensados dessa retenção, anotando-se o fato na requisição.

- ✓ Coleta de urina de mulheres
- Afastar os grandes lábios com uma das mãos e continuar assim enquanto fizer a higiene e coleta do material.
- No caso de menstruação ou na presença de corrimento, remover a secreção visível com gaze e colocar um tampão de gaze durante a coleta.
- Usar uma gaze embebida em sabão, lavar de frente para trás e certificar-se que está limpando por entre as dobras, o melhor possível. Iniciar pela região peri-uretral, intróito vaginal, seguindo pelos pequenos e grandes lábios e concluindo pela região perineal (não alcançando a região anal).

- Enxaguar com uma gaze umedecida, sempre no sentido de cima para baixo, para limpeza e remoção do sabão. Repetir mais duas vezes esse procedimento.
- Secar com outra gaze.
- Continuar afastando os grandes lábios e pedir para a paciente urinar. O início do jato urinário deve ser desprezado na cuba ou comadre. Sem interromper a micção, **coletar o jato médio** urinário no frasco estéril (até a metade do frasco).
- Desprezar o jato final na cuba ou comadre.
- Após o término, fechar bem o frasco.
- Levar o frasco para o laboratório **(ou colocar no isopor com gelo)**.
- ✓ Coleta em crianças que não tem o controle da micção:
 - Fazer uso de saco coletor, masculino ou feminino. Deve-se fazer higienização prévia do períneo, coxas e nádegas com água e sabão neutro. Caso não haja micção, o saco coletor deve ser trocado a cada 30 minutos, **repetindo-se a higienização da área perineal e genital**.
- ✓ Coleta em homens:
 - Fazer a higienização cuidadosa da genitália externa, com água e sabão e enxugar. Colher o jato médio, preferencialmente da primeira micção do dia, ou então com uma retenção urinária de 2 a 3 horas.
- ✓ Pacientes cateterizados com sistema de drenagem fechados:
 - Pode-se coletar a urina puncionando-se o cateter na proximidade da junção com o tubo de drenagem. Não se deve coletar a urina da bolsa coletora. Clampear o cateter. Fazer antisepsia com álcool 70% do local, coletar com agulha e seringa 5 a 10 ml de urina.

obs.: Amostras de urina coletadas da extremidade do cateter de Foley são impróprias para cultura porque as pontas do cateter estão invariavelmente contaminadas com microrganismos uretrais. Não devem ser realizadas.

INSTRUÇÃO PARA COLETA DE FEZES

- Coletar as fezes e colocar em um frasco contendo o meio para transporte (Cary Blair ou salina glicerizada tamponada), fornecido pelo laboratório, em quantidade equivalente a uma colher de sobremesa. Preferir sempre as porções mucosas e sanguinolentas.

- Fechar bem o frasco e agitar o material.
- Se a amostra não for entregue no laboratório em uma hora, conservar em geladeira a 4° C, no máximo por um período de 12 horas. Marcar o horário da coleta.
- ✓ Coleta de swab retal:
 - Usar swab de algodão, certificando-se de que a ponta da haste que suporta o algodão esteja bem revestida.
 - Umedecer o swab em salina estéril (não usar gel lubrificante) e inserir no esfíncter retal, fazendo movimentos rotatórios.
 - Ao retirar, certifique-se que existe coloração fecal no algodão. O número de swabs depende das investigações solicitadas.
 - Encaminhar imediatamente ao laboratório em meio de transporte (Stuart ou Cary Blair).

TEMPO CRÍTICO PARA ENTREGA DA AMOSTRA AO LABORATÓRIO E MEIOS DE TRANSPORTE

Amostra	Tempo Crítico	Temperatura	Meio de Transporte
Anaeróbios	30 minutos	Ambiente	Fragmento ou aspirado em frasco estéril.
Fezes	1 hora	Ambiente	Frasco seco estéril
Fragmentos	30 minutos	Ambiente	Frasco estéril
Líquido pleural	Imediatamente	Ambiente	Tubo seco estéril
Líquor	Imediatamente	Ambiente	Tubo seco estéril
Material respiratório	30 minutos	Ambiente	Tubo seco estéril
Sangue	1 hora	Ambiente	Passar para caldo nutriente imediatamente após a coleta
Swab *	Ate 8 horas	Ambiente	Meio semi-sólido (Stuart ou Amies)
Urina	1 hora	Ambiente	Frasco seco estéril
	12 horas	Refrigerada	Frasco seco estéril

***Evitar Swab transportado em tubo seco estéril, pois o tempo de espera pode levar ao ressecamento excessivo do material e perda da viabilidade de alguns micro-organismos.**

CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO PARA AMOSTAS CLÍNICAS

- Discrepância entre a identificação da amostra e o pedido médico.

- Falta de identificação da amostra.
- Origem da amostra ou tipo de amostra não identificada.
- Teste a ser realizado não especificado.
- Culturas para anaeróbios recebidas em condições não apropriadas de anaerobiose.
- Frascos não estéreis.
- Material colhido em frascos não padronizados ou de origem desconhecida.
- Material colhido em *swab* não padronizado ou de origem desconhecida (“cotonete”).
- Material de colostomia.
- Mais de uma amostra de urina, fezes, escarro, ferida colhida no mesmo dia e da mesma origem.
- Material clínico recebido em solução de fixação (formalina).
- Material conservado inadequadamente com relação a temperatura (urinas coletadas há mais de 24 horas, que ficaram guardadas em geladeira, ou coletadas há mais de duas horas, sem refrigeração).
- Ponta de cateter de Foley.
- *Swab* de abscesso peri-retal.
- *Swab* de amostra de queimadura.
- *Swab* de lesão de gangrena.
- *Swab* de lesão periodontal.
- *Swab* de úlcera de decúbito.
- *Swab* de úlcera varicosa.
- *Swab* de cânula de traqueostomia.
- *Swab* de dreno de colostomia.
- *Swab* de secreção de gastro/jejunostomia.

- *Swab* seco.
- *Swab* único com múltiplas requisições de testes microbiológicos.
- Ponta de dreno.
- Vômito.
- Aspirado gástrico de recém-nascido.

OBS: Dessa forma o CCIH orienta que apenas as culturas de vigilância devem ser feita através de swab ou outras situações a depender da avaliação dessa comissão.

REFERÊNCIAS

MANUAL DE MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO RELACIONADA A ASSISTÊNCIA À SAÚDE. Módulo 4: Procedimentos Laboratoriais: da requisição do exame à análise microbiológica e laudo final. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2012.¹

LE MICRO

¹ Elaborado por Dra Larissa Beuttenmuller – Microbiologista CRBM 3003