

GUIA DE COLETA DE SANGUE

Alterações em modo de coleta, acondicionamento e processamento interferem diretamente na qualidade dos resultados obtidos.

grupo
Kovalent
DIAGNÓSTIKO VET . 



Antes de INICIAR:

- Ambiente claro, arejado, organizado e limpo;
- Animal sob controle, com a contenção adequada (para evitar acidentes e estresse);
- Material adequado e estéril preparado: álcool a 70% ou álcool iodado a 1 %, algodão, garrote, seringa e agulha adequadas, tubos identificados;
- A identificação dos tubos deve ser realizada com nome do animal, data de coleta e número de registro.

No momento da Coleta:

- Evitar o estresse do animal;
- É indicado que o animal esteja em jejum alimentar:
 - **Fêmeas prenhes e filhotes:** 6 horas;
 - **Animais adultos:** 8-12 horas).
- É importante que o animal esteja em jejum para evitar lipemia, que pode comprometer algumas análises bioquímicas e a qualidade da amostra.
- A dosagem de glicemia exige o jejum alimentar respeitado.
- Informar se o animal estiver sob uso de algum medicamento, visto que pode haver interferência nos níveis séricos de alguns analitos.

Locais padronizados para punção sanguínea conforme espécie:

- **Cães e gatos:** cefálica, jugular, femoral ou safena lateral. Em cães de grande porte, a veia cefálica é a preferida. Em cães e gatos de pequeno porte, a veia jugular é frequentemente utilizada.
- **Em pequenos animais,** também há a coleta capilar (na veia marginal da orelha).
- **Bovinos, Equinos, Caprinos e Ovinos:** Veia jugular, veia da cauda.
- **Suínos:** Veia cava anterior, veia jugular, veia externa.



- **Após contenção do animal,** realizar a tricotomia ou afastamento dos pelos, realizar o garrote e passar álcool 70° ou iodado sobre o local.
- **Garrote:** idealmente não deve ser utilizado por mais de 2 minutos: além de desconforto ao animal, pode gerar resultados alterados para Cálcio, Plaquetas e níveis de coagulação, por exemplo. Para o teste destes parâmetros, deve-se evitar o uso de garrote e o mínimo de trauma na punição, se possível.

Tipos de agulha:

Para evitar hemólise e ruptura de vasos sanguíneos, é importante que o tamanho das agulhas seja adequado aos tamanhos dos animais.

Desta forma, agulhas mais calibrosas devem ser utilizadas para animais maiores e menos calibrosas para animais menores.

- Espécies pequenas (Adultos até 30 kg): 22G
- Espécies médias (Adultos 30 – 60 kg): 20G
- Espécies grandes (Adultos mais de 60 kg): 18G

Tipos de tubos:

Para cada tipo de análise, deve-se considerar diferentes tubos de coleta, uma vez que podem conter reagentes que podem interferir em algumas reações. Desta forma, é importante saber o analito a ser investigado para a escolha do tubo de coleta. Existe, inclusive, um sistema de cores nas tampas dos tubos para identificar o anticoagulante de cada:

- **Azul** – contém Citrato de sódio. Utilizados para exames de coagulação na proporção 1:9 partes de sangue. Não é adequado para análises hematológicas, pois não preserva a morfologia celular adequadamente. Alterações importantes podem ocorrer caso o preenchimento de sangue no tubo não respeita a instrução do fabricante.
- **Verde** – contém Heparina. Utilizados para análise bioquímica, pois não interferem com os reagentes usados na maioria dos testes. Atua interferindo na conversão de protrombina em trombina. Pode ser usado para contagem eritrocítica, mas não é recomendado para análises leucocitárias, pois pode causar agregação dos leucócitos, alterando a sua morfologia e dificultando a contagem. Comercialmente pode-se encontrar heparina de sódio e heparina de lítio, sendo este último o indicado para análise gasométrica e hematologia em amostras de aves e répteis.
- **Vermelho e tubo amarelo** – não contém anticoagulantes, contém ativador de coágulo. São utilizados para coleta de soro para análises bioquímicas e sorológica. Tubos amarelos, geralmente, contém gel separador para isolar o soro.
- **Roxo** – contém o anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). São utilizados para análises hematológicas (separa plasma, concentrado de leucócitos e eritrócitos). Este anticoagulante preserva a integridade celular.
- **Cinza** – contém fluoreto de sódio com EDTA. Costuma ser utilizado para dosagem de glicose e/ou lactato. Atua inibindo o processo de glicólise que ocorre nas hemácias, mantendo os níveis *in vitro* destes metabólitos por mais tempo.



Imagens ilustrativas





Coleta **com seringa:**

1. Contenção do animal;
2. Tricotomia ou afastamento dos pelos;
3. Coloque a agulha na seringa sem retirar a capa protetora. Não toque na parte inferior da agulha;
4. Movimente o êmbolo e pressione-o para retirar o ar;
5. Ajuste o garrote e escolha a veia;
6. Faça a antisepsia do local da coleta com algodão umedecido em álcool a 70% ou álcool iodado a 1%. Não toque mais no local desinfetado;
7. Retire a capa da agulha e faça a punção;
8. Solte o garrote assim que o sangue começar a fluir na seringa;
9. Após a coleta de sangue peça para o colega auxiliar pressionar o local da punção com gaze ou algodão por alguns minutos;
10. Descarte a agulha em recipiente para resíduos perfurocortantes e transfira o sangue delicadamente pela parede do tubo seguindo a sequência adequada. Descarte a seringa em lixo infectante.

Sequência adequada para distribuição dos tubos:

- Frascos para hemocultura.
- Tubos com citrato (tampa azul).
- Tubos para soro com Ativador de Coágulo, com ou sem Gel Separador (tampa **vermelha** ou **amarela**).
- Tubos com Heiparina (tampa verde).
- Tubos com EDTA (tampa roxa).
- Tubos com fluoreto (tampa cinza).

11. Realize a homogeneização do tubo assim que o sangue for depositado;

Acondicionamento e Transporte:

Imediatamente após a coleta, os tubos devem ser vertidos delicadamente entre 6 e 10 vezes (180 graus). Cuidado para não agitar o tubo ou realizar movimentos bruscos. Em seguida, mantidos sob refrigeração (entre 2 e 6 °C) em posição vertical até seu processamento. Idealmente, após a coleta, amostras devem ser processadas em até 24 horas. Amostras coletadas em tubos contendo ativador de coágulo devem esperar, pelo menos, 30 minutos para serem processadas. Enquanto isso, todas elas devem ser mantidas na posição vertical, refrigeradas.

Desde a coleta até seu processamento (centrifugação), tubos com amostras de sangue não podem permanecer na horizontal. Manter tubos na horizontal, não verter após a coleta ou não manter na faixa de temperatura adequada são ações que podem comprometer a qualidade da amostra e, conseqüentemente, interferir nos resultados dos exames. Não devemos congelar amostras de sangue antes que estas sejam processadas, salvo quando são amostras utilizadas para testes a partir de sangue total.

Para transporte de amostras brutas recém-coletadas de sangue total, o transporte deve ser realizado em caixa isotérmica limpa, vedada com blocos de gelo retornável, de modo a mantê-las refrigeradas todo o trajeto.

Amostras de soro ou plasma, ou ainda sangue total que não serão processadas, devem ser transportadas em caixa limpa, vedada com gelo seco, de modo a mantê-las congeladas todo o trajeto.

mantidos
sob refrigeração
entre **2 e 6 °C**



Processamento **das amostras:**

Após a coleta para separação de soro ou plasma, realiza-se a centrifugação desses tubos em alta rotação no decorrer de 10 – 15 minutos. Em seguida, transportar o líquido obtido com auxílio de pipetas para um tubo seco ou do tipo Eppendorff® devidamente identificado. Em casos de tubos com gel separador deve-se aguardar a coagulação completa da amostra, então centrifugar e transferir o soro por inversão.

Para a separação de plasma ou soro, deve-se centrifugar os tubos tampados, **por 15 minutos, a 2.000g.**

Para conversão em rpm, deve-se considerar o diâmetro da centrífuga na seguinte fórmula:

$$G = 1,12 \times R \times (RPM/1000)^2$$

É importante ter cuidado na coleta de soro/plasma de amostras centrifugadas para que não sejam contaminadas com eritrócitos ou outros componentes.

Obs: Usa-se o concentrado de leucócitos para pesquisa de hemoparasitas ou inclusão viral. Neste caso existem várias técnicas disponíveis e só são realizadas depois que a amostra de sangue total em EDTA foi analisada no equipamento hematológico, efetuado o capilar micro-hematócrito e esfregaço sanguíneo.



Armazenamento Pós-Analítico:

Idealmente, processadas ou não, amostras biológicas devem ser armazenadas em alíquotas, evitando contaminação e degradação. Além disso, devem estar sob temperatura controlada, protegidas de agentes químicos.

se forem alíquotas para testes em até 72 horas. Amostras que serão utilizadas em exames em até 1 mês (30 dias), podem ser armazenadas a -20°C . Amostras estoque, biobanco ou amostras já utilizadas que não serão descongeladas em breve, devem ser mantidas a $-70/ -80^{\circ}\text{C}$.

Hemólise:

É o processo em que há uma ruptura nas membranas celulares de eritrócitos com extravasamento de conteúdo celular, como hemoglobina, por exemplo, para o meio. Mudanças bruscas de temperatura, agitação em excesso ou impacto, são exemplos de causas importantes de hemólise em amostras sanguíneas. Amostras hemolisadas apresentam mais interferentes de reação, podem ter reações entre reagentes e componentes que ocasionem resultados alterados ou comprometidos, principalmente, se forem exames sorológicos, para parâmetros imunológicos ou bioquímicos, além de interferir na turbidez e coloração da amostra.

Para evitar: No momento da coleta, puxe o sangue com delicadeza para dentro da seringa, evite o uso de agulhas de calibre pequeno ou inadequadas e respeite o volume (proporção com o anticoagulante) de amostra em cada tubo. Além disso, depois da coleta, é importante manter esses tubos sempre na posição vertical.

Considerações Finais:

- É muito importante que a requisição seja preenchida corretamente com os dados e histórico do paciente;
- Não fure a tampa do tubo com a agulha;
- Nunca envie amostras de sangue no mesmo recipiente que amostras com formol;
- Evite hemólise, manipule a amostra com cuidado e fique atento a temperatura;
- Hemodiluição pode alterar os resultados do hemograma;
- Em suspeita de anemia recomenda-se solicitar a contagem de reticulócitos para avaliar resposta medular;
- Para dosagens de glicose e lactato use o tubo de tampa cinza;
- Para dosagem de bilirrubinas e vitaminas, a amostra deve ser protegida da luz;
- Em caso de dúvidas entrar em contato com o laboratório.





grupo
kovalent 

Rua Coronel Gomes Machado, 358
Centro, Niterói/RJ - CEP: 24020-112
Tel: (21) 3907-2534

grupokovalent.com.br

@ f  in 