

ORIENTAÇÕES PARA QUALIDADE DE AMOSTRAS

BIOLOGIA MOLECULAR



ORIENTAÇÕES GERAIS:

Prezado cliente, favor ficar atento aos espécimes clínicos indicados na tabela de preços para cada exame do setor de biologia molecular, pois os testes são validados de acordo com os mesmos e no envio de amostra distinta para qual o teste foi padronizado e validado a mesma não será processada. Para aspirados de forma geral trabalhar com volumes mínimos de pelo menos 300µL, não sendo aceitos tubos de coleta distintos do especificado visto que alguns anticoagulantes podem interferir na atividade da TaqDNA Polimerase e na extração de material genômico.

Para Leishmaniose e *Ehrlichia* os tecidos recomendados são aspirado de medula óssea e punção de linfonodos, sendo também aceito para *Leishmania* fragmentos de tecidos e órgão em geral, pele (incluindo borda de orelha) e suabe obtido de ferida cutânea. Para *Babesia* e mesmo em situações de impossibilidade de realizar o aspirado de medula óssea e de linfonodos considerando diagnóstico para *Ehrlichia*, pode-se enviar sangue total em tubo contendo anticoagulante (pelo menos metade do volume do tubo de tampa roxa) mantido preferencialmente refrigerado se armazenado por até 72

Coleta de amostras

Antes de cada coleta (medula óssea, pele e demais tecidos) deve-se realizar previamente a assepsia, e caso seja material cutâneo recomenda-se a retirada de pêlos do local a ser puncionado.

Vários estudos demonstraram que a heparina e o grupo heme da hemoglobina são potentes inibidores da atividade da TaqDNA Polimerase, de modo que os anticoagulantes recomendados para essas amostras são os ácidos etilenodiaminotetracético (EDTA) e citrato dextrose (ACD).

Deve-se aspirar a medula óssea (300µL) e em seguida o material deve ser transferido para tubo de 1,5mL com EDTA (microtubo tampa roxa), novo e identificado.

O aspirado de medula óssea, de outros fluidos e sangue total, pode ser armazenado temporariamente por até 72 horas a 2 - 8 °C antes do processamento. A qualidade do material genômico extraído é superior em matérias resfriados, mas caso necessite manter o material estocado por período superior a 72 horas recomenda-se o congelamento sendo importante remover os eritrócitos antes de congelar a amostra a -20°C (por até vários meses), visto que os eritrócitos em baixas temperaturas podem liberar o grupo heme e aumentar o risco de inibição da reação de PCR.

Coleta de Pele e/ou outros tecidos

Coletar um fragmento de aproximadamente 5-6 mm da pele e/ou outro tecido do animal, após realizada a assepsia e retirada dos pêlos.

O material deve ser transferido para tubo de transporte (tampa branca) de 1,5mL limpo e identificado ou frasco de coleta Universal estéril.

A amostra deve ser congelada e quando isso não for possível, recomenda-se que a amostra de tecido seja colocada em banho de gelo e transportada em gelo para melhor preservação dos ácidos nucleicos.

As amostras de tecido também podem ser acondicionadas em álcool 95%, pelo menos 5x o volume da amostra (visualmente a amostra precisa ser completamente envolta na solução e ficar em suspensão), sendo nesses casos o envio em temperatura ambiente.

Transporte

Com exceção das amostras enviadas em álcool 95%, para as demais o tecido deve ser resfriado imediatamente e transportado ao laboratório em banho de gelo reciclável.

