

Influência da colheita, transporte e conservação do material nos resultados de um exame bacteriológico.

Maria Aparecida de Araújo Arantes ** Édimo Garcia de Lima **
Sikeo Enoki *** Olga Coelho de Castro **

RESUMO

Os autores pretenderam, neste trabalho, preconizar algumas normas de importância, pertinentes à colheita em determinados nichos, transporte e conservação de espécimes bacterianos. No cotejamento destas normas foi feita uma abordagem especial à orofaringe, fossas nasais e mãos, de onde foi colhido o material para estudo. Duas técnicas foram utilizadas: uma em que se usou semeadura imediata do "inoculum" e outra após 5 horas. Os resultados foram, sob todos os aspectos, significativamente melhores com a técnica em que se usou a semeadura imediata. Chamou a atenção o fato de que o crescimento do estreptococo, só se verificou quando se usou esta técnica com semeadura imediata.

INTRODUÇÃO

MATSEN & EDERER (1976) mostraram que um dos primeiros passos a seguir no diagnóstico preciso de uma doença infecciosa consiste na colheita de uma amostra adequada do material a ser examinado. Muitas vezes a amostra bacteriana a ser isolada fica comprometida por ter sido colhida de local inadequado, ou pela demora no transporte para o laboratório, permitindo modificações qualitati-

vas e quantitativas do microorganismo a ser isolado.

Ainda MATSEN & EDERER (1976) chamaram a atenção para o modo como deve ser realizada a colheita do material, com a finalidade de melhor favorecer o isolamento bacteriano, assim como para a vulnerabilidade à secagem do material que serviu de colheita e preservação dos microorganismos. Ainda se referem aos critérios de transporte a que devem ser

*Trabalho realizado no Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

** Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP.

*** Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, USP.

submetidas as amostras visando à obtenção adequada das bactérias para exames microbiológicos de modo a fornecer resultados exatos e mais significativos das culturas.

POLLOCK (1948) demonstrou que fibras de algodão, contendo ácidos graxos, podem ser bactericidas. Alguns autores recomendam sua substituição pelo alginato de cálcio (FORNEY, 1968).

Nem sempre é possível cultivar amostras bacterianas obtidas imediatamente e, para resolver tal problema, foram idealizados vários meios de transporte com a finalidade de se manter a viabilidade dos microorganismos. Por isso, autores como STUART, TOSHACH & PATSULA (1954), iniciaram um estudo no sentido de encontrar, um modo de transportar espécimes sem que estes sofressem alterações de qualquer natureza.

Outros autores, com o mesmo intuito, desenvolveram estudos similares em relação às enterobacteriaceas (CARY & BLAIR, 1964).

Atualmente têm surgido algumas sugestões práticas de transporte com o fim de evitar alterações nos microorganismos colhidos (EDERER & CHRISTIAN, 1975). Os sistemas atualmente disponíveis diferem basicamente na embalagem que apresentam e encerram o mesmo princípio básico de conservação. Um estudo pormenorizado destes sistemas foi realizado por HOSTY, JOHNSON, FREECAR, GADDY & HUNTER, em 1964. Estes autores demonstraram que basicamente os sistemas estudados não diferiam uns dos outros a não ser na embalagem que apresentavam.

Em 1968, HOLLINGER & LINBERG estudaram a maneira de se manter viáveis as amostras de estreptococos do grupo A, empregando envelopes

de polietileno para transporte. Com a mesma finalidade foram realizados as pesquisas de REDYS, HIBBARD & BORMAN, em 1968.

Neste trabalho os autores revêm a atual situação dos aspectos que dizem respeito à colheita, transporte e conservação do material colhido, motivados pela ocorrência de um certo número de culturas falso-negativas principalmente em portadores de *Staph. aureus* e de estreptococos. Verificaram também a flora normal e os bastonetes Gram-negativos das áreas amostradas.

Os autores utilizaram procedimentos que favorecem o crescimento de várias espécies bacterianas. Verificaram ainda a adequação de um método de colheita, transporte e conservação do material que não intervisse nos resultados dos exames bacteriológicos. Por fim identificaram quantitativa e qualitativamente os microorganismos isolados e compararam as técnicas utilizadas.

MATERIAL E MÉTODO

Para este trabalho foi utilizada uma coleção de espécimes bacterianos provenientes do nariz, garganta e mãos de 30 indivíduos, de ambos os sexos, trabalhadores de uma fábrica de produtos alimentícios, sem qualquer infecção aparente nas áreas estudadas. Duas técnicas de colheita foram utilizadas:

Técnica A: O material foi colhido com zaragatoa umedecida em água destilada esterilizada, sem nenhuma norma ou recomendação pré-estabelecida. Após a colheita o espécime foi identificado, acondicionado e transportado para o laboratório. Permane-

ceu em temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) por cinco horas. Foi semeado em placas de agar-sangue e incubado a 37°C .

Técnica B: A colheita foi realizada em seguida à técnica A, utilizando também zaragatoa umedecida em água destilada esterilizada, em condições de assepsia e de antisepsia, por pessoa treinada e experiente.

A colheita pertinente a cada nicho amostrado sofreu uma variação na técnica, a saber:

1. NARIZ: — A zaragatoa foi girada por três vezes em movimentos rotatórios, de forma a abranger a porção média até a inferior de cada fossa nasal.

2. MÃO: — Foram executados também movimentos rotatórios, de forma que a zaragatoa entrasse em perfeito contato com a palma, dorso, espaços interdigitais e unhas de ambas as mãos.

3. GARGANTA: — Foi utilizado um abaixador de língua para que toda a cavidade bucal fosse vista. A zaragatoa foi girada em ambos os lados da cavidade bucal.

O material colhido das diferentes áreas foi semeado diretamente em placas de agar-sangue e incubado por duas horas.

Foram obtidas 90 amostras em utilizando cada uma das técnicas descritas.

A identificação foi feita pelo aspecto microscópico das colônias, que após contagem, foram submetidas a um exame microscópico (método de Gram). Para a contagem das colônias foi considerado o seguinte:

até 20 colônias +
50 colônias ++
100 colônias +++
150 colônias e mais colônias ++++

TABELA 1. Microorganismos mais encontrados nas áreas amostradas pela técnica B.

Microorganismos	Número por área amostrada	Percentuais
Bacilo subtilis	N - 0	0
	G - 0	0
	M - 6	20
Bastonetes Gram-negativos não identificados	N - 7	23,3
	G - 7	23,3
	M - 12	40,0
Streptococos Beta-hemolíticos	N - 3	10,0
	G - 4	13,3
	M - 0	0
Staphylococcus aureus	N - 30	100,0
	G - 6	20,0
	M - 26	86,6

Legenda: N (nariz), G (garganta) e M (mãos).

RESULTADOS

A identificação das bactérias em placas de agar-sangue foi feita pelo aspecto macroscópico das colônias e halos de hemólise, pela coloração de Gram das bactérias e pelo exame da estafilocagulase das amostras isoladas.

As bactérias mais encontradas nas áreas examinadas pela técnica B estão evidenciadas na tabela 1. Nesta tabela estão ainda o número de vezes em que o microorganismo foi encontrado e seus respectivos percentuais.

Na tabela 2, encontram-se os resultados das possíveis diferenças e semelhanças apresentadas pelos resultados quando foram comparados os resultados obtidos ou por meio das técnicas A e B.

Os resultados com os bacilos Gram-negativos não apresentaram grandes diferenças quanto ao uso das técnicas A e B, apesar do crescimento daquelas bactérias ser mais intenso com a técnica B. Quanto aos resultados com o *Staphylococcus aureus* houve maior incidência no nariz, em relação à garganta e mãos, mas não diferiram os resultados entre as técnicas A e B, o que não exclui a maior incidência de resultados positivos quando se usou a técnica B. Isto ocorreu nos três "locoi" examinados.

Os estreptococos, tanto alfa como beta não foram isolados quando se utilizou a técnica A.

DISCUSSÃO

Este trabalho foi motivado pelo fato de que um certo número de culturas falso-negativas ocorriam, principalmente em "portadores" de *Staph. aureus*, apesar deste microorganismo ser resistente a dessecação.

A preocupação dos autores foi o de utilizar uma técnica adequada ao crescimento de bactérias. Foi ainda objetivo do trabalho estabelecer a melhor maneira de colheita de modo a não interferir nos resultados do crescimento bacteriano. Procurou-se verificar possíveis "interferências" no modo de colher, transportar e conservar as amostras até o momento de ser efetuado o exame laboratorial. A seqüência dos procedimentos usados seguiu alto rigor em todos os seus pormenores, evitando assim interferência de artifícios que pudessem modificar os resultados finais.

O principal propósito dos autores não foi ditar normas mas sim examinar técnicas de colheita e sugerir a que melhor se comportasse na evidênciação de um determinado microorganismo. Assim, os resultados apresentados pelas duas técnicas empregadas servirão de base para outros trabalhos.

Quanto ao crescimento bacteriano, a técnica B proporcionou melhores resultados em relação ao *Staph. aureus*.

Os estreptococos alfa e beta-hemolíticos não foram evidenciados através da técnica A, mostrando aí o valor das condições mais rigorosas que os autores apresentaram e que constituem a técnica B.

CONCLUSÕES

1. Houve crescimento abundante de bactérias constituintes da flora normal, utilizando-se a técnica B e escasso ou nulo quando foi usada a técnica A.

2. As espécies bacterianas isoladas foram em maior número nas placas em que se usou a técnica B.

TABELA 2: Relação dos resultados de crescimento de microorganismos com as técnicas A e B.

NARIZ			GARGANTA						MÃO					
S. aureus			S. B. Hemol.		Bast. G. Neg.		S. aureus		S. B. Hemol.		Bast. G. neg.			
A	B	Nº ind.	A	B	Nº ind.	A	B	Nº ind.	A	B	Nº ind.	A	B	Nº ind.
0	10c	1	0	+	1	0	2c	1	0	15c	1	0	10c	1
0	+++	1	0	++	1	0	+	1	0	+	2	0	4c	1
0	+++	2	0	+++	1	2c	+++	1	0	++	1	0	++	1
0	+++	1				5c	5c	1	1c	20c	1	15c	++	1
1c	+++	3				18c	0	0	4c	+	1	+	++	1
2c	+++	3				+	+	1	+	+++	1	+++	15c	1
3c	10c	1				++	0	0				++++	++++	1
3c	++++	2				++	+++	1				1c	+	1
4c	+++	1				+++	+++	1				2c	++++	1
15c	+++	1										4c	+	1
18c	+++	1										4c	++	1
+	++	1										4c	+++	2
+	++++	2												
++	+++	5												
+++	+++	2												
+++	++++	2												
++++	++++	1												

A (Técnica A) e B (Técnica B),
S. aureus (*Staphylococcus aureus*)
S. B. Hemol. (*Streptococcus beta hemolítico*)
Bast. G. Neg. (*Bastonetes Gram negativos*)
Nº ind. (Número de indivíduos)
c (colônias)

3. Quanto ao crescimento de bastonetes Gram-negativos poucas diferenças foram observadas.

4. Não houve crescimento do estreptococo hemolítico quando foi usada a técnica A.

5. O crescimento do *Staph. aureus* mostrou-se muito mais exuberante quando foi empregada a técnica B, sem nenhuma reação falso-negativa em relação à técnica A.

6. A colheita de material deve ser executada com técnica adequada e imediatamente realizada a semeadura no próprio momento da colheita.

SUMMARY

INFLUENCE OF COLLECTION, TRANSPORT AND PRESERVATION OF MATERIAL ON A BACTERIOLOGIC EXAMINATION.

Two techniques for collection of bacterial specimens are compared. The specimens were obtained from the oropharynx, nose and hands.

In one technique the material was inoculated immediately after collection in the other technique 5 hours later.

The results were significantly better when the material was inoculated immediately after collection.

A fact that called our attention, was the growth of Streptococci in the immediate inoculation; this did not occur in the delayed method.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARY, S. G. & BLAIR, E. B. — New transport medium for shipment of clinical specimens. *J. Bacteriol.*, 88: 96, 1964.

EDERER, G. M. & CHRISTIAN, D. L. — Evaluation of bacteriological transport systems. *Amer. J. Med. Technol.*, 41: 299, 1975.

FORNEY, J. E. — Collection, Handling and shipment of microbiological specimens. Public Hlth. Service Publications No. 976, Washington, D. C. Government Printing Office, Nov. 1968.

HOLLINGER, N. F. & LINDBERG, L. H. — Delayed recovery of streptococci from throat swabs. *Amer. J. Public Hlth.*, 48: 1162, 1958.

HOSTY, T. S.; JOHNSON, M. B.; FREECAR, M. A.; GADDY, R. E. & HUNTER, F. R. — Evaluation of the efficiency of four different types of swabs in the recovery of group A Streptococci. *Hlth. Lab. Sci.*, 1: 163, 1964.

MATSEN, J. M. & EDERER, G. M. — Specimen collection and transport. *Human Path.*, 7 (3): 297-307, 1976.

POLLOCK, M. R. — Unsaturated fatty acids in cotton plugs. *Nature*, 161: 853, 1948.

REDYS, J. J.; HIBBARD, E. W. & BORMAN, E. K. — Improved dry swab transportation for streptococcal specimens. *Publ. Hlth. Rep.*, 82: 143-149, 1968.

STUART, R. D.; TOSHACH, S. R. & PATSULA, T. M. — The problem of transport of specimens for culture of gonococci. *Can. Publ. Hlth.*, 45: 73, 1954.