

Protocolo da fase pré-analítica e analítica do setor de microbiologia

Organizador
Carine Rosa Naue

Protocolo da fase pré-analítica e analítica do setor de microbiologia

1ª Edição

Petrolina-PE
HU-UNIVASF
2019

Hospital de Ensino da Universidade Federal do Vale do São Francisco - HU-UNIVASF

Protocolo da fase pré-analítica e analítica do setor de microbiologia

ISBN: 978-85-92656-15-7

Carine Rosa Naue

Bióloga/Microbiologista do Laboratório de Análises Clínicas do HU-UNIVASF (EBSERH). Mestre em Fitossanidade pela Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) e Doutora em Fitopatologia pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

P967 Protocolo da fase pré-analítica e analítica do setor de microbiologia [recurso
Eletrônico] / Organizado por Carine Rosa Naue; edição e ilustração de Mateus Gonçalves Ferreira
dos Santos - - Petrolina, PE: HU UNIVASF, 2019.

141 p.: il.

ISBN 978-85-92656-15-7

1. Microbiologia - protocolo operacional. 2. Coletas de amostras biológicas. 3. Semeios de amostras biológicas. 4. Coloração. I. Naue, Carine Rosa. II. Título. III. Hospital de Ensino da Universidade Federal do Vale do São Francisco.

CDD 616.010202

**Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares
Hospital Universitário da Universidade Federal do Vale do São Francisco**

ABRAHAM BRAGANÇA DE VASCONCELLOS WEINTRAUB
Ministro de Estado da Educação

OSWALDO DE JESUS FERREIRA
Presidente da Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares

RONALD JUENYR MENDES
Superintendente

LUIZ OTAVIO NOGUEIRA DA SILVA
Gerente de Atenção à Saúde

ROBERTO RIVELLINO ALMEIDA DE MIRANDA
Gerente Administrativo

RICARDO SANTANA DE LIMA
Gerente de Ensino e Pesquisa

JULIANA PEDROSA KORINFISK
Chefe da Divisão de Gestão do Cuidado

FABRÍCIO OLINDA DE SOUZA MESQUITA
Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico

ELABORAÇÃO

Carine Rosa Naue

Bióloga/Microbiologista do Laboratório de Análises Clínicas do HU-UNIVASF (EBSERH). Mestre em Fitossanidade pela Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) e Doutora em Fitopatologia pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Ádria Clésia dos Santos Lopes

Biomédica do Laboratório de Análises Clínicas do HU-UNIVASF (EBSERH)
Especialista em biotecnologia pela Universidade Federal de Lavras (UFLA)
Mestre em Biologia e Biotecnologia de Microrganismos (UESC)

Eddiê Aparecida Costa de Oliveira Silva

Biomédica do Laboratório de Análises Clínicas do HU-UNIVASF (EBSERH)
Especialista em Análises Clínicas pela Faculdade CATHEDRAL

Júlio César de Almeida Neto

Biomédico do Laboratório de Análises Clínicas do HU-UNIVASF (EBSERH)
Pós-Graduado em Análises Clínicas pela Faculdade Unyleya

Edilayne Barbosa Mariz e Cruz

Biomédica do Laboratório de Análises Clínicas do HU-UNIVASF (EBSERH)

REVISÃO TÉCNICA

Cristina Lumi Fukagawa – Biomédica – Chefe da Unidade de Laboratório de Análises clínicas e Anatomia Patológica do HU-UNIVASF (EBSERH)

REVISÃO E FORMATAÇÃO

Sofia Bonfim Alves Palhares
Assistente Administrativo – Unidade de Planejamento HU-Univasf

CAPA

Mateus Gonçalves Ferreira dos Santos
Relações Públicas – Unidade de Comunicação Social – HU-Univasf

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.001 - Página 1/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE SECREÇÃO TRAQUEAL	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	3
1. COLETAS DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS PARA CULTURA	4
POP 01: COLETA DE SECREÇÃO TRAQUEAL.....	4
POP 02: COLETA DE HEMOCULTURA	8
POP 03: COLETA DA PONTA DO CATETER.....	13
POP 04: COLETA DE SECREÇÃO NASAL	17
POP 05: COLETA DE UROCULTURA.....	21
POP 06: COLETA PARA PESQUISA DE BAAR (TUBERCULOSE E HANSENÍASE).....	26
POP 07: COLETA DE COPROCULTURA	32
POP 08: COLETA DE SECREÇÃO DE FERIDAS E ABSCESSOS.....	36
POP 09: COLETA DE AMOSTRA PARA O DIAGNÓSTICO DE H1N1	41
POP 10: COLETA DE CULTURA DE VIGILÂNCIA	44
2. SEMEIO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS PARA REALIZAÇÃO DE CULTURAS	47
POP 11: SEMEIO DE HEMOCULTURA.....	47
POP 12: SEMEIO DE UROCULTURA	51
POP 13: SEMEIO DE PARTES MOLES	55
POP 14: SEMEIO DA PONTA DO CATETER	58
POP 15: PROTOCOLO DE SEMEIO DE ABSCESSOS, SECREÇÕES E BIÓPSIAS.....	62
POP 16: SEMEIO DE SECREÇÃO TRAQUEAL	70
POP 17: SEMEIO DE ESCARRO	73
POP 18: SEMEIO DO LAVADO BRONCOALVEOLAR E BRÔNQUICO	76
POP 19: SEMEIO DO ESCOVADO BRÔNQUICO.....	78
3. TESTES DE IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS GRAM POSITIVAS	81
POP 20: PROVA DA CATALASE.....	81
POP 21: PROVA DE COAGULASE	84
4. COLORAÇÕES REALIZADAS NO SETOR DE MICROBIOLOGIA	87
POP 22: COLORAÇÃO DE GRAM.....	87

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.001 - Página 2/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE SECREÇÃO TRAQUEAL	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

POP 23: COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/TUBERCULOSE.....	92
POP 24: COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/HANSENÍASE	97
5. TESTES CONFIRMATÓRIOS.....	103
POP 25: CIM PARA POLIMIXIMA B.....	103
POP 26: CIM PARA VANCOMICINA.....	107
POP 27: CIM: MÉTODO DE INIBIÇÃO DOS CARBAPENÊMICOS: mCIM E eCIM	111
POP 28: PRODUÇÃO DE BETALACTAMASE DO TIPO AMPC INDIZÍVEL OU PLASMIDIAL	114
POP 29: PRODUÇÃO DE ESBL	117
POP 30: TESTE DE INDUÇÃO DO FENÓTIPO MLSB OU TESTE D	119
POP 31: TESTE RÁPIDO PARA A DETECÇÃO DE CARBAPENEMASE OXA-48, KKPC E NDM ..	123
6. EQUIPAMENTOS	127
POP 32: IDENTIFICAÇÃO AUTOMATIZADA PHOENIX™ 100.....	127
POP 33: UTILIZAÇÃO DA CABINE DE SEGURANÇA BIOLÓGICA	131

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.001 - Página 3/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE SECREÇÃO TRAQUEAL	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

APRESENTAÇÃO

1. O objetivo dos protocolos operacionais padrão em procedimentos técnicos em microbiologia clínica tem como objetivo principal padronizar e instituir na Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica do HU-Univasf, trinta e três (33) protocolos clínicos setoriais, de forma a padronizar procedimentos realizados no setor de microbiologia.
2. A equipe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia patológica é constituída atualmente por 01 (uma) Bióloga, 08 (oito) Biomédicos e 15 (quinze) Técnicos de Laboratório que atuam na assistência aos pacientes internados, através da realização de exames, além de participar de atividades de gestão, ensino, pesquisa e extensão, comissões e fiscalização de contratos.
3. O setor de microbiologia do Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica do HU-UNIVASF- Filial EBSERH possui, atualmente, equipamentos automatizados que agilizam a entrega dos resultados de culturas. No setor, encontra-se o equipamento de hemocultura automatizado, o qual libera os resultados 48h antes quando comparado com o método manual, além de possuir substâncias que neutralizam antibióticos da amostra, caso o paciente já esteja administrando antibiótico. Além deste equipamento, o setor, possui um equipamento de identificação de bactérias automatizadas, o qual identifica em até 4 horas o micro-organismo e em até 24h libera o resultado do antibiograma.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.001 - Página 4/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE SECREÇÃO TRAQUEAL	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

COLETAS DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS PARA CULTURA

POP 01: COLETA DE SECREÇÃO TRAQUEAL

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

O exame de cultura de secreção traqueal é utilizado para verificação de infecções no sistema respiratório, principalmente pneumonias nosocomiais do tipo PAV (pneumonia associada à ventilação mecânica).

3. ABRANGÊNCIA

Todos os setores do HU-UNIVASF.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Fisioterapeutas, enfermeiros e médicos.

5. OBJETIVO

Padronizar as técnicas de coleta para exames microbiológicos.

6. MATERIAIS

Frasco estéril específico bronquinho (coletor azul com duas vias), disponível no laboratório; sonda de aspiração nº12 ou 14; látex para aspiração; luva de procedimento e luva estéril; óculos protetor; avental descartável; e touca.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.001 - Página 5/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE SECREÇÃO TRAQUEAL	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

Deverá ser realizada por duas pessoas, uma que fará a aspiração e a outra que irá manipular o vácuo, que será utilizado para aspirar a amostra no frasco de coleta;

- Higienizar as mãos;
- Explicar sempre que possível ao paciente o procedimento que será realizado;
- Preparar o material necessário;
- Calçar luvas de procedimento e colocar óculos de proteção e máscara;
- Posicionar o paciente adequadamente com a cabeceira elevada;
- Conferir régua de gases (funcionamento do vácuo);
- Calçar as luvas estéreis e preservá-las (manter a técnica asséptica);
- Conectar a sonda ao látex e o látex ao vácuo;
- Inserir a sonda de aspiração só até o final do tubo sem exercer, inicialmente, aspiração ou inserir a sonda de aspiração na traqueostomia, distante o bastante para estimular o reflexo da tosse;
 - Realizar aspiração delicadamente, encerrando o movimento, tão logo, esteja presente a secreção no frasco coletor;
 - Encaminhar ao laboratório.

8. INDICAÇÃO

O exame é realizado por indicação médica.

9. IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

O frasco deve estar identificado com a etiqueta de identificação disponibilizada pelo laboratório, onde irá conter os seguintes dados:

- Nome completo do paciente e nº do prontuário;
- Setor;
- Número da solicitação

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.001 - Página 6/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE SECREÇÃO TRAQUEAL	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

10. OBSERVAÇÕES

Não é admitido o uso de **soro fisiológico** para a coleta de secreção traqueal. Todo resultado liberado pelo Laboratório de Microbiologia é consequência da qualidade da amostra recebida. **COLETA e/ou TRANSPORTE INADEQUADOS** podem ocasionar falhas no isolamento do verdadeiro agente etiológico e favorecer o desenvolvimento de microbiota normal ou contaminante induzindo a tratamentos inapropriados.

11. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA-ANVISA. **MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE. Módulo 4: Procedimentos Laboratoriais: da Requisição do Exame à Análise Microbiológica e Laudo Final.** Brasília-DF,2013.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica,** São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827pp.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.001 - Página 7/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE SECREÇÃO TRAQUEAL	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 24/05/2019 Ass.:	Nome: Comissão de Controle de Infecções Hospitalares	Data: 24/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.002 - Página 8/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE HEMOCULTURA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

POP 02: COLETA DE HEMOCULTURA

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

O exame de hemocultura é utilizado para diagnosticar infecções da corrente sanguínea.

3. ABRANGÊNCIA

Todos os setores assistenciais do HU-UNIVASF.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos do Laboratório, Enfermeiros e Médicos.

5. OBJETIVO

Padronizar as técnicas de coleta para exames microbiológicos.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Para coleta de hemocultura são utilizados frascos (aeróbios e anaeróbios) específicos que estão à disposição no Laboratório; Seringa de 20ml; algodão embebido com clorexidina alcoólica; luva de procedimento e luva estéril; óculos protetor; avental descartável; e touca.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

- Colher antes da administração de antibióticos;
- Lavar as mãos, preferencialmente com sabonete antisséptico e secá-las, conforme Protocolo de Higienização das Mãos/CCIRAS;
- Remover os selos das tampas dos frascos de hemocultura e fazer assepsia prévia nas tampas com álcool 70%;

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.002 - Página 9/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE HEMOCULTURA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

- Explicar sempre que possível ao paciente o procedimento que será realizado;
- Garrotear o braço do paciente e selecionar uma veia adequada;
- Fazer a antisepsia com clorexidina alcólica, friccionando a pele em círculos semiabertos a partir do ponto a ser puncionado. Secar por 30 segundos. Em seguida, aplicar novamente o clorexidina alcoólica utilizando novo algodão ou gaze. Esperar cerca de 30 segundos para secar, repetir o procedimento por mais uma vez e aguardar secar;
 - Calçar luvas estéreis e realizar a punção sem colocar a mão no local;
 - Aspirar os seguintes volumes de sangue: adulto: 8-10 ml por frasco; crianças 3 ml por frasco; neonatos até 1 ano: 0,5 - 1,5 ml, preferencialmente > 1 ml por frasco; (se peso corporal < 1800 g, coletar apenas 1 amostra);
 - Soltar o garrote;
 - Retirar a agulha do local da punção;
 - Pressionar o local da punção com gaze seca;
 - Fazer a inoculação do sangue diretamente no frasco aeróbio quando for coletado por sistema fechado (escalpe) e depois inocular o restante (10mL) no frasco anaeróbio. Se for sistema aberto (seringa e agulha) inocular primeiro no frasco anaeróbio e depois no frasco aeróbio.
 - Se for utilizado seringa e agulha não se deve **fazer a troca da agulha para realizar a inoculação do sangue nos frascos.**
 - Deixe escoar o sangue livremente, pois os frascos para hemocultura são fechados a vácuo. Homogeneizar a amostra por inversão do frasco, duas a três vezes;
 - Identificar os frascos com as etiquetas disponibilizadas pelo laboratório com nome do paciente, prontuário e número da solicitação, além do número da amostra. **Caso use a etiqueta de identificação do paciente, não a coloque sobre o código de barras presente no frasco;**
 - Encaminhar o material ao laboratório o mais breve possível **EM TEMPERATURA AMBIENTE.**

8. INDICAÇÃO

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.002 - Página 10/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE HEMOCULTURA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

O exame é realizado por indicação médica.

9. IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

O frasco deve estar identificado com a etiqueta de identificação disponibilizada pelo laboratório, onde irá conter os seguintes dados:

- Nome completo do paciente e nº do prontuário;
- Setor;
- Número da solicitação

10. OBSERVAÇÕES

- **TODA REQUISIÇÃO MÉDICA PARA EXAMES MICROBIOLÓGICOS DEVE CONTER OBRIGATORIAMENTE:** identificação do paciente: nome completo, número de prontuário, data de nascimento, setor, data da solicitação, identificação da amostra: tipo de amostra, uso de antimicrobianos, suspeita clínica, exames solicitados e identificação do médico requisitante e carimbo.

- **NÚMERO DE FRASCOS A SEREM COLETADOS:** Para maior clareza, será definido neste documento que a coleta de uma amostra de hemocultura corresponde a uma punção. **Cada punção corresponde a dois frascos (um frasco aeróbio e outro anaeróbio) para adultos ou um frasco aeróbio para pacientes pediátricos até 13kg. Caso consiga colher somente 10mL por punção em pacientes adultos, o frasco escolhido deverá ser o aeróbio.**

- **FRASCOS UTILIZADOS E INTERVALOS ENTRE AS PUNÇÕES:** Endocardite bacteriana aguda: coletar três amostras de punções venosas diferentes (braço direito e esquerdo), no tempo zero, assim que requisitado, 30 e 60 minutos, totalizando 6 frascos, sendo que desses 6 frascos **dois serão para anaeróbios**. Endocardite bacteriana subaguda: coletar três amostras, nas primeiras 24 horas (zero, 30 e 60 minutos), de punções venosas diferentes. Colher, de preferência, as duas primeiras antes do início da febre. Se, após 24 horas de cultivo, não apresentarem crescimento bacteriano, colher mais três amostras. Infecções sistêmicas e localizadas como sepses aguda, meningite, osteomielite, artrite ou pneumonia bacteriana aguda: coletar duas amostras de punções

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.002 - Página 11/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE HEMOCULTURA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

venosas diferentes, antes da antibioticoterapia, com intervalos de 30 minutos entre as punções. Se possível, 20ml por amostra.

- **EVITAR A COLETA DURANTE O PICO FEBRIL:** A coleta de sangue durante o pico febril evidencia uma menor concentração de bactérias devendo por esse motivo ser evitada. No paciente com febre constante, colher em qualquer horário.

- **ATENÇÃO:**

- Não é indicada a troca de agulha para inoculação do sangue no frasco, exceto quando a punção for realizada através de scalpe;

- Coletar preferencialmente antes de iniciar a antibioticoterapia. Não é recomendado a técnica de coleta através de cateteres ou cânulas. Punções arteriais não trazem benefícios na recuperação dos microrganismos quando comparadas com punções venosas. É inadequada a coleta de sangue via cateter venoso central pré inserido;

- O volume ideal corresponde a 10% do volume total do frasco de coleta;
Quando ocorrer a coleta de outros exames além da hemocultura, colocar primeiramente o sangue no frasco de hemocultura e não utilizar heparina na seringa. **Hemocultura é um exame de URGÊNCIA!!!**

11. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA-ANVISA. **MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE. Módulo 4: Procedimentos Laboratoriais: da Requisição do Exame à Análise Microbiológica e Laudo Final.** Brasília-DF,2013.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica,** São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827pp.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.002 - Página 12/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE HEMOCULTURA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 24/05/2019 Ass.:	Nome: Comissão de Controle de Infecções Hospitalares	Data: 24/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.003 - Página 13/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE PONTA DE CATETER	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

POP 03: COLETA DA PONTA DO CATETER

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

O exame da ponta do cateter é realizado para diagnosticar infecções relacionadas ao cateter.

3. ABRANGÊNCIA

Todos os setores do HU-UNIVASF.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Enfermeiros e médicos.

5. OBJETIVO

Padronizar as técnicas de coleta para exames microbiológicos.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Coletor universal (tampa vermelha); lâmina de bisturi ou tesoura estéril; gaze estéril; álcool a 70%; luva de procedimento e luva estéril; óculos protetor; avental descartável e touca.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO:

- Deve ser salientado que os mesmos cuidados de desinfecção utilizados na introdução do cateter devem ser adotados no momento da retirada;
- Limpar a pele com clorexidina alcóolica antes de remover o cateter (no mínimo 3x);
- Colocar luvas estéreis e segurar a porção exposta do cateter e remover cuidadosamente o cateter do paciente, cuidar para evitar o contato com a pele;

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.003 - Página 14/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE PONTA DE CATETER	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

- Segurar a porção distal sobre um recipiente estéril e cortar a ponta, aproximadamente 5cm (a que estava inserida na veia do paciente), com tesoura estéril ou lâmina de bisturi, deixando-a cair dentro do recipiente estéril, sem meio de cultura;

- **Não dobrar ou enrolar a ponta do cateter. É necessário que a ponta esteja reta para rolar sobre a placa do meio de cultura;**

- O material deve ser transportado imediatamente ao laboratório evitando sua excessiva secagem **(no máximo 15 minutos após coleta).**

- Obs: Cateteres aceitáveis para cultura semi-quantitativa: Central, CVP, Hickman, Broviac, periférico, arterial, umbilical, alimentação parenteral e Swan-Ganz.

- **ATENÇÃO: Para melhor correlação clínica – infecção relacionada ao cateter – recomenda-se a coleta de hemocultura de sangue periférico no momento da retirada do cateter.**

8. INDICAÇÃO

O exame é realizado por indicação médica.

9. IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

O frasco deve estar identificado com a etiqueta de identificação disponibilizada pelo laboratório, onde irá conter os seguintes dados:

- Nome completo do paciente e nº do prontuário;
- Setor;
- Número da solicitação

10. OBSERVAÇÕES:

- Enviar a ponta do cateter para cultura somente se houver sinal de infecção (inflamação no sítio de inserção, febre, sinais de sepse ou bacteriemia documentada sem foco de infecção aparente).

- Todo resultado liberado pelo Laboratório de Microbiologia é consequência da qualidade da amostra recebida. **COLETA e/ou TRANSPORTE INADEQUADOS** podem ocasionar falhas no

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.003 - Página 15/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE PONTA DE CATETER	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

isolamento do verdadeiro agente etiológico e favorecer o desenvolvimento de microbiota normal ou contaminante induzindo a tratamentos inapropriados.

11. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA-ANVISA. **MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE. Módulo 4: Procedimentos Laboratoriais: da Requisição do Exame à Análise Microbiológica e Laudo Final.** Brasília-DF,2013.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica,** São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827p.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.003 - Página 16/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE PONTA DE CATETER	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 24/05/2019 Ass.:	Nome: Comissão de Controle de Infecções Hospitalares	Data: 24/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.004 - Página 17/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE SECREÇÃO NASAL PARA CULTURA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

POP 04: COLETA DE SECREÇÃO NASAL

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

O exame de secreção nasal é realizado para o diagnóstico de alguma ferida na narina ou alguma infecção do trato respiratório alto.

3. ABRANGÊNCIA

Todos os setores do HU-UNIVASF.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de enfermagem, enfermeiros e médicos.

5. OBJETIVO

Padronizar as técnicas de coleta para exames microbiológicos.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Swab com meio de cultura para transporte, disponível no Laboratório; pacote de gaze estéril; luvas de procedimento; óculos protetor; avental descartável; e touca.

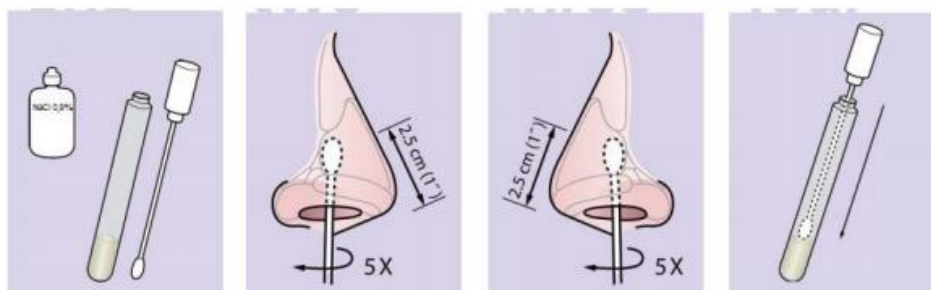
7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO:

- Lavar as mãos com água e sabão ou higienizá-las com álcool 70%;
- Calçar as luvas de procedimentos;
- Remover o excesso de secreção ou exsudato nasal;

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.004 - Página 18/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE SECREÇÃO NASAL PARA CULTURA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

- Inserir, delicadamente, o swab em aproximadamente 2,5cm de uma das narinas ou até sentir resistência e fazer movimentos rotatórios no mesmo sentido por 10 a 15 segundos.
- Remover o swab e colocá-lo em meio de transporte;
- Encaminhar o material o mais rápido possível ao Laboratório.

Figura 01: Desenho esquemático para coleta de secreção nasal.



8. INDICAÇÃO

O exame é realizado por indicação médica.

9. IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

O frasco deve estar identificado com a etiqueta de identificação disponibilizada pelo laboratório, onde irá conter os seguintes dados:

- Nome completo do paciente e nº do prontuário;
- Setor;
- Número da solicitação

10. OBSERVAÇÕES

• Todo resultado liberado pelo Laboratório de Microbiologia é consequência da qualidade da amostra recebida. **COLETA** e/ou **TRANSPORTE INADEQUADOS** podem ocasionar falhas no isolamento do verdadeiro agente etiológico e favorecer o desenvolvimento de microbiota normal ou contaminante induzindo a tratamentos inapropriados.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.004 - Página 19/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE SECREÇÃO NASAL PARA CULTURA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

11. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA-ANVISA. **MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE. Módulo 4: Procedimentos Laboratoriais: da Requisição do Exame à Análise Microbiológica e Laudo Final.** Brasília-DF,2013.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica,** São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827pp.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.004 - Página 20/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE SECREÇÃO NASAL PARA CULTURA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 24/05/2019 Ass.:	Nome: Comissão de Controle de Infecções Hospitalares	Data: 24/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.006 - Página 21/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA PARA PESQUISA DE BAAR (TUBERCULOSE E HANSENÍASE)	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

POP 05: COLETA DE UROCULTURA

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

Exame realizado para o diagnóstico de infecção do trato urinário.

3. ABRANGÊNCIA

Todos os setores do HU-UNIVASF.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Enfermeiros e o paciente também pode estar envolvido no processo de coleta.

5. OBJETIVO

Padronizar as técnicas de coleta para exames microbiológicos.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Coletor universal (tampa vermelha); gaze estéril; material para higiene íntima (ver protocolo); PVPI; material para sondagem de alívio (ver protocolo); luva de procedimento e luva estéril; óculos protetor; avental descartável e touca.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO:

✓ Amostra de urina de jato médio

Feminina

- Retirar a roupa da cintura para baixo para facilitar a higiene e a coleta;

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.006 - Página 22/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA PARA PESQUISA DE BAAR (TUBERCULOSE E HANSENÍASE)	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

- Lavar as mãos e separar os grandes lábios;
- Higienizar a área genital de frente para trás com gaze embebida em clorexidina aquosa a 0,2%. Novamente de frente para trás enxaguar a área limpa com gaze umedecida em água para retirar o excesso de produto (repetir o procedimento com água duas vezes); observar protocolo institucional;

- Manter os grandes labios separados, desprezar o primeiro jato no vaso sanitário e sem interromper a micção, posicionar o frasco de coleta no caminho do jato urinário recolhendo o jato médio. Transferir aproximadamente 10 ml da urina para o coletor universal (tampa vermelha);

- Encaminhar ao laboratório o mais rápido possível.
- **A coleta do jato médio urinário deve ser evitada durante o período menstrual.** Na necessidade de coletar amostra neste período a paciente deve ser orientada a utilizar absorvente interno e posteriormente realizar o procedimento de higiene íntima conforme descrito acima.

Masculina

- Lavar as mãos; retraindo o prepúcio (se necessário), higienizar a genitália externa com gaze embebida em clorexidina aquosa a 0,2%. Novamente enxaguar a área limpa com gaze umedecida em água para retirar o excesso de produto (repetir o procedimento com água duas vezes), dando atenção especial ao meato uretral,; observar protocolo institucional;

- Desprezar o primeiro jato no vaso sanitário e sem interromper a micção, posicionar o frasco de coleta no caminho do jato urinário recolhendo o jato médio. Transferir aproximadamente 10 ml da urina para para o coletor universal (tampa vermelha);

- Encaminhar ao laboratório o mais rápido possível.

✓ **Amostra de urina de qualquer jato**

É a amostra obtida de crianças com o auxílio de um saco coletor ou de pessoas de idade que não conseguem fazer retenção urinária para a micção. Fazer a higiene da região genital, coxas e nádegas com gaze embebida em clorexidina aquosa a 0,2%, novamente de frente para trás enxaguar a área limpa com gaze umedecida em água para retirar o excesso de produto (repetir o procedimento com água duas vezes); observar protocolo institucional;

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.006 - Página 23/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA PARA PESQUISA DE BAAR (TUBERCULOSE E HANSENÍASE)	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

Utilizando outra gaze embebida em água enxaguar retirando o sabão ou a clorexidina. Fixar o saco coletor assepticamente. Trocar o saco a cada 45 minutos repetindo a higiene a cada troca. **Se houver contaminação fecal a amostra deve ser desprezada e o procedimento reiniciado.** Não enviar ao laboratório a amostra caso a criança tenha defecado. Após a micção, retirar cuidadosamente o coletor, fechar e enviar ao laboratório o mais rápido possível. Em pacientes de qualquer idade que não conseguem reter a urina, fazer a higiene com água e sabonete, conforme descrito para urina de jato médio.

✓ **Pacientes com cateter urinário**

Fechar a sonda **30 minutos antes da coleta.** Utilizando gaze embebida em álcool 70% ou clorexidina alcoólica, realizar a desinfecção da porção superior da cânula, aspirar quando possível 20ml da urina utilizando seringa e agulha estéreis. A urina deverá ser transferida para o coletor universal (tampa vermelha) e em seguida enviada ao laboratório o mais rápido possível. **NUNCA** coletar urina da bolsa coletora do cateter.

✓ **Urina coletada por sonda de alívio**

A passagem de sonda de alívio é preferencialmente indicada pelo médico e o procedimento é feito pela equipe de enfermagem. É recomendado desprezar o fluxo inicial (aproximadamente 30ml) antes de recolher a amostra para cultura. A decisão de passar sonda de alívio é do médico e não do laboratório.

✓ **Punção suprapúbica**

A amostra coletada por seringa e agulha diretamente da bexiga, o procedimento é realizado pelo médico do paciente e é indicado para cultura de anaeróbios e coleta infantil quando houver dúvidas na interpretação dos resultado da cultura de urina.

✓ **Urina de Primeiro Jato**

Esse tipo de mostra pode ser utilizada como substituto da secreção uretral para pesquisa de agentes infecciosos da uretra, quando essa é escassa ou não pode ser obtida par cultura. Higienizar a área genital conforme descrito para urina jato médio, coletar os primeiros 10ml de urina.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.006 - Página 24/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA PARA PESQUISA DE BAAR (TUBERCULOSE E HANSENÍASE)	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

8. INDICAÇÃO

O exame é realizado por indicação médica.

9. IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

O frasco deve estar identificado com a etiqueta de identificação disponibilizada pelo laboratório, onde irá conter os seguintes dados:

- Nome completo do paciente e nº do prontuário;
- Setor;
- Número da solicitação

10. OBSERVAÇÕES:

- Coletar a urina, sempre que possível, antes da antibioticoterapia. **NUNCA coletar urina de comadre ou papagaio ou do sistema fechado de sondagem (coletor de urina).**
- Obter a primeira urina da manhã sempre que possível ou reter a urina na bexiga por no mínimo 2 horas antes de realizar a coleta. A permanência da urina na bexiga por pelo menos 4 horas é o ideal pois diminui o número de resultados falso negativos. **Não forçar a ingestão de líquido a fim de induzir a micção do paciente**, líquidos em excesso irão diluir a urina, diminuindo a contagem de colônias ou gerando resultados falso negativos.
- Todo resultado liberado pelo Laboratório de Microbiologia é consequência da qualidade da amostra recebida. **COLETA e/ou TRANSPORTE INADEQUADOS** podem ocasionar falhas no isolamento do verdadeiro agente etiológico e favorecer o desenvolvimento de microbiota normal ou contaminante induzindo a tratamentos inapropriados.

11. REFERÊNCIAS

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.006 - Página 25/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA PARA PESQUISA DE BAAR (TUBERCULOSE E HANSENÍASE)	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA-ANVISA. **MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE. Módulo 4: Procedimentos Laboratoriais: da Requisição do Exame à Análise Microbiológica e Laudo Final.** Brasília-DF, 2013.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica,** São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827pp.

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 24/05/2019 Ass.:	Nome: Comissão de Controle de Infecções Hospitalares	Data: 24/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.006 - Página 26/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA PARA PESQUISA DE BAAR (TUBERCULOSE E HANSENÍASE)	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

POP 06: COLETA PARA PESQUISA DE BAAR (TUBERCULOSE E HANSENÍASE)

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

A pesquisa de BAAR é utilizada para fazer o diagnóstico de tuberculose e hanseníase.

3. ABRANGÊNCIA

Todos os setores assistenciais do HU-UNIVASF.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Para a pesquisa de bacilos álcool-ácido resistentes o paciente irá participar ativamente da coleta, no entanto a supervisão direta dos enfermeiros ou fisioterapeutas garante um melhor resultado.

5. OBJETIVO

Padronizar as técnicas de coleta para exames microbiológicos.

6. MATERIAL NECESSÁRIO:

- Baciloscopia para TUBERCULOSE: Coletor universal (tampa vermelha); luvas de procedimento; óculos protetor; avental descartável e touca;
- Baciloscopia para HANSENÍASE: Lâmina para esfregaço, lâmina de bisturi, pinça, gaze, álcool 70%, óculos protetor; avental descartável e touca.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO:

- ✓ **Técnica de coleta (Baciloscopia para TUBERCULOSE)**

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.006 - Página 27/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA PARA PESQUISA DE BAAR (TUBERCULOSE E HANSENÍASE)	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

- O primeiro escarro da manhã, antes da ingestão de alimentos é considerado a melhor amostra;
- O paciente deve escovar os dentes **sem creme dental** e enxaguar a boca várias vezes com a água, inclusive com gargarejos;
- Quando for o caso, retirar a protese dentária antes da coleta;
- Respirar fundo várias vezes, e tossir profundamente, a amostra deve vir do peito e não da garganta;
- Recolher o escarro expectorado dentro de um frasco de boca larga com tampa rosca ou coletor universal de tampa vermelha, fornecido pelo laboratório, encostando a borda do frasco abaixo do lábio anterior, certificando-se que não contaminou a parte externa do frasco;
- Fechar bem o frasco e levar ao laboratório.
- **ATENÇÃO:**
 - **O escarro obtido deve ser PURULENTO, amostras constituídas por saliva são impróprias para análise bacteriológica pois não representam o trato respiratório inferior.**
 - Coletar a amostra sempre que possível antes da antibioticoterapia. Deverão ser coletados duas amostras em dias consecutivos. A primeira amostra deve ser colhida de imediato, isto é, no local da consulta, em um lugar arejado e distante das pessoas. Se não for possível realizar a coleta no local da consulta, o paciente deve colher à noite, antes do jantar. O profissional de saúde deve entregar os escarradores já identificados e simular a técnica de coleta durante as orientações. Realizar a segunda coleta no dia seguinte, logo ao acordar.
- ✓ **Técnica de coleta (Baciloscopia para HANSENÍASE)**
 - É importante que o local seja arejado, limpo e com boa iluminação;
 - Acomodar o paciente confortavelmente;
 - Explicar o procedimento que será realizado. No caso de criança explicar também para a pessoa responsável;

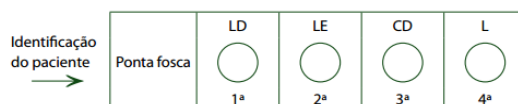
SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.006 - Página 28/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA PARA PESQUISA DE BAAR (TUBERCULOSE E HANSENÍASE)	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

- Observar indicações dos sítios de coleta na solicitação médica;
- Manusear a lâmina pelas bordas evitando colocar os dedos no local onde a amostra será distribuída;
- Identificar a lâmina com as iniciais do nome do paciente e o local que foi colhida a amostra;
- No momento de cada coleta fazer antissepsia com álcool 70%, dos sítios indicados na solicitação médica;
- Com o auxílio da pinça Kelly, fazer uma prega no sítio de coleta, pressionando a pele o suficiente para obter a isquemia, evitando o sangramento. Manter a pressão até o final da coleta tomando o cuidado de não travar a pinça;
- Fazer um corte na pele de aproximadamente 5mm de extensão por 3mm de profundidade. Colocar o lado não cortante da lâmina do bisturi em ângulo reto em relação ao corte e realizar o raspado intradérmico das bordas e do fundo da incisão, retirando quantidade suficiente e visível do material. Se fluir sangue no momento do procedimento (o que não deverá acontecer se a compressão da pele estiver adequada) enxugar com algodão;
- Desfazer a pressão e distribuir o material coletado na lâmina, fazendo movimentos circulares do centro para a borda numa área aproximadamente de 5 – 7mm de diâmetro, mantendo uma camada fina e uniforme;
- O primeiro esfregaço deverá ser colocado na extremidade mais próxima da identificação do paciente (parte fosca), e o segundo próximo ao primeiro observando uma distância, de pelo menos 0,5cm entre cada amostra e assim sucessivamente. Os esfregaços devem estar no mesmo lado da parte fosca da lâmina;
- Entre um sítio e outro de coleta, limpar a lâmina do bisturi e a pinça utilizada com algodão ou gaze embebido em álcool 70%, para que não ocorra a contaminação entre eles;
- Fazer curativo compressivo e nunca liberar o paciente se estiver sangrando.
- **ATENÇÃO:**

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.006 - Página 29/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA PARA PESQUISA DE BAAR (TUBERCULOSE E HANSENÍASE)	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

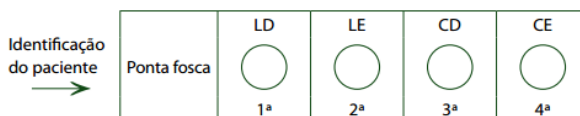
○ **Sítios de Coleta do Raspado Intradérmico:** Em pacientes com lesões cutâneas visíveis ou áreas com alteração de sensibilidade, a coleta deverá ser feita em lóbulo auricular direito (LD), lóbulo auricular esquerdo (LE), cotovelo direito (CD) e lesão (L), conforme figura 1. Nas lesões planas, coletar no limite interno. Nos nódulos, tubérculos e placas eritematosas marginadas por microtubérculos, coletar no centro.

Figura 1 – Disposição dos esfregaços em lâmina de vidro.



Em pacientes que não apresentam lesões ativas visíveis, colher material do lóbulo auricular direito (LD), lóbulo auricular esquerdo (LE), cotovelo direito (CD) e cotovelo esquerdo (CE), conforme figura 2.

Figura 2 – Disposição dos esfregaços em lâmina de vidro.



8. INDICAÇÃO: O exame é realizado por indicação médica.

9. FRASCO UTILIZADO PARA COLETA E TRANSPORTE DA AMOSTRA:

- Baciloscopia para TUBERCULOSE: coletor universal (tampa vermelha) ou frasco de boca larga com tampa rosca, ambos disponíveis no laboratório.
- Baciloscopia para HANSENÍASE: lâmina de vidro para microscopia, nova, limpa e desgordurada, com ponta fosca.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.006 - Página 30/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA PARA PESQUISA DE BAAR (TUBERCULOSE E HANSENÍASE)	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

10. IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

O frasco deve estar identificado com a etiqueta de identificação disponibilizada pelo laboratório, onde irá conter os seguintes dados:

- Nome completo do paciente e nº do prontuário;
- Setor;
- Número da solicitação

11. OBSERVAÇÕES:

• Todo resultado liberado pelo Laboratório de Microbiologia é consequência da qualidade da amostra recebida. **COLETA** e/ou **TRANSPORTE INADEQUADOS** podem ocasionar falhas no isolamento do verdadeiro agente etiológico e favorecer o desenvolvimento de microbiota normal ou contaminante induzindo a tratamentos inapropriados.

12. REFERÊNCIA:

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA-ANVISA. **Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência À Saúde. Módulo 4: Procedimentos Laboratoriais: da Requisição do Exame à Análise Microbiológica e Laudo Final.** Brasília-DF,2013.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica,** São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827p.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.006 - Página 31/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA PARA PESQUISA DE BAAR (TUBERCULOSE E HANSENÍASE)	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 24/05/2019 Ass.:	Nome: Comissão de Controle de Infecções Hospitalares	Data: 24/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.007 - Página 32/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE COPROCULTURA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

POP 07: COLETA DE COPROCULTURA

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

O exame de coprocultura é realizado para o diagnóstico de infecções intestinais.

3. ABRANGÊNCIA

Todos os setores assistenciais do HU-UNIVASF.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Enfermeiros e Técnicos de Enfermagem.

5. OBJETIVO

Padronizar as técnicas de coleta para exames microbiológicos.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Swab com meio de cultura para transporte (cary blair).

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

✓ Técnica de Coleta Simples

- Evacuar em um recipiente limpo e seco. Não é indicado evacuar sobre jornal ou papel higiênico;
- Retirar o swab da embalagem, passar o lado que contém o algodão nas fezes, de preferência nas partes da amostra que contém muco, sangue ou pus, quando presentes.
- Abrir o tubo contendo meio de transporte;
- Colocar a parte de algodão impregnada de fezes dentro do meio de transporte;

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.007 - Página 33/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE COPROCULTURA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

- Identificar o swab com a etiqueta disponibilizada pelo laboratório;
- Encaminhar o swab imediatamente ao Laboratório.

✓ **Técnica de Coleta Para o Swab Retal**

- Introduzir o swab no ânus, aproximadamente 1 cm e fazer movimentos rotatórios suaves por alguns segundos. Retirar o swab, certificar que existe coloração fecal no algodão e introduzir o swab no meio de Cary-Blair e fechá-lo.

- Enviar ao Laboratório.
- Para facilitar a coleta, o swab pode ser umedecido em salina ou água destilada estéril.

✓ **Conteúdo De Colostomia, Ileostomia Ou Duodenal**

- Colocar em um coletor universal de tampa vermelha ou no meio de transporte Cary Blair e enviar imediatamente ao Laboratório.

8. INDICAÇÃO

O exame é realizado por indicação médica.

9. IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

O frasco deve estar identificado com a etiqueta de identificação disponibilizada pelo laboratório, onde irá conter os seguintes dados:

- Nome completo do paciente e nº do prontuário;
- Setor;
- Número da solicitação

10. OBSERVAÇÕES

- Coletar a amostra durante a fase aguda da diarreia, preferencialmente antes da antibioticoterapia;

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.007 - Página 34/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE COPROCULTURA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

- Evitar que a amostra fecal tenha contato com a urina ou água do vaso sanitário;
- Não utilizar papel higiênico para coletar as fezes, pois ele pode ser impregnado com sais de bário, que são inibidores de patógenos fecais. Admite-se a coleta sobre fralda descartável nova, recolhendo-se as fezes APENAS DA PORÇÃO SUPERFICIAL DAS FEZES (NÃO COLETAR DAS FEZES EM CONTATO COM A FRALDA) logo após a evacuação, pois as fraldas podem ser impregnadas com sais de bário também;
- Todo resultado liberado pelo Laboratório de Microbiologia é consequência da qualidade da amostra recebida. **COLETA e/ou TRANSPORTE INADEQUADOS** podem ocasionar falhas no isolamento do verdadeiro agente etiológico e favorecer o desenvolvimento de microbiota normal ou contaminante induzindo a tratamentos inapropriados.

11. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA-ANVISA. **MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE. Módulo 4: Procedimentos Laboratoriais: da Requisição do Exame à Análise Microbiológica e Laudo Final.** Brasília-DF,2013.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827pp.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.007 - Página 35/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE COPROCULTURA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 24/05/2019 Ass.:	Nome: Comissão de Controle de Infecções Hospitalares	Data: 24/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.008 - Página 36/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE SECREÇÃO DE FERIDAS E ABCESSOS	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

POP 08: COLETA DE SECREÇÃO DE FERIDAS E ABCESSOS

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

Este exame é realizado para o diagnóstico de infecções que estejam ocorrendo em feridas e abscessos.

3. ABRANGÊNCIA

Todos os setores do HU-UNIVASF.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Enfermeiros e Médicos.

5. OBJETIVO

Padronizar as técnicas de coleta para exames microbiológicos.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Frasco estéril (quando for realizado aspirado) ou swabs com meio de cultura, ambos disponíveis no laboratório.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

- **TÉCNICA DE COLETA SIMPLES:**
 - Higienizar as mãos;
 - Explicar sempre que possível ao paciente o procedimento que será realizado;

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.008 - Página 37/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE SECREÇÃO DE FERIDAS E ABCESSOS	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

- Preparar o material necessário;
- Calçar as luvas estéreis;
- As margens e superfície da lesão devem ser descontaminadas com solução antisséptica aquosa e soro fisiológico, respectivamente;
 - 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;
 - Se necessário, usar soro fisiológico para diminuir a viscosidade e facilitar a aspiração;
 - Amostras coletadas com seringa e agulha deverão ser colocadas em um frasco estéril e encaminhado o mais rápido possível ao Laboratório.

- **TÉCNICA DE COLETA DE SECREÇÃO DE FERIDA COM SWAB**

- Higienizar as mãos;
- Explicar sempre que possível ao paciente o procedimento que será realizado;
- Preparar o material necessário;
- Calçar as luvas estéreis;
- Optar pelo tecido aparentemente limpo e viável (granulação), pois é o local onde a infecção ocorre. A escarificação das bordas após antisepsia pode produzir material seroso que é adequado para cultura. Se a ferida apresentar excesso de esfacelos e tecido necrótico, eles deverão ser removidos previamente à coleta de swab;
 - Não coletar o pus emergente;
 - Quando a coleta for superficial, as margens da ferida devem ser descontaminadas com solução antisséptica aquosa e o restante da superfície da lesão deve ser limpa com solução fisiológica;
 - O swab poderá ser colhido de duas maneiras: a primeira é pela técnica de Z (Zig-zag), atingindo pelo menos dez pontos, com o cuidado de não tocar nas margens da ferida, sendo que em cada ponto deve ser realizado movimentos circulares. A segunda é pressionar e rodar o swab em seu próprio eixo, sobre 1cm² do tecido de granulação durante cinco segundos, a fim de expressar o fluido do tecido que provavelmente abriga os microrganismos. A pressão exercida no tecido com a haste do

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.008 - Página 38/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE SECREÇÃO DE FERIDAS E ABCESSOS	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

swab é de extrema relevância para a coleta de material, uma vez que as bactérias se alojam tanto dentro das células como entre as membranas.

- **TECNICA DE COLETA DE BIÓPSIA DA PELE**
 - Descontaminar a superfície com solução antisséptica aquosa, que deverá ser removida com solução fisiológica logo após a antisepsia;
 - Procedimento médico, coletar 3 mm a 4 mm de amostra;
 - Colocar em recipiente estéril contendo solução fisiológica fornecido pelo Laboratório.

8. INDICAÇÃO

O exame é realizado por indicação médica.

9. IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

O frasco deve estar identificado com a etiqueta de identificação disponibilizada pelo laboratório, onde irá conter os seguintes dados:

- Nome completo do paciente e nº do prontuário;
- Setor;
- Número da solicitação

10. OBSERVAÇÕES

- Descrever o sítio anatômico da ferida bem como as informações adicionais (material de ferida superficial ou profunda). Essas informações são extremamente valiosas para o laboratório, auxiliando na interpretação dos resultados;
- **Swabs só serão utilizados quando não for possível a coleta de aspirado com seringa e agulha;**
 - **Não coletar o pus emergente.** O material perto das margens da lesão e a parte mais profunda são mais representativos e possuem maior viabilidade de microrganismos;
 - A cultura de secreções secas e crostas não é recomendada.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.008 - Página 39/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE SECREÇÃO DE FERIDAS E ABCESSOS	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

- A coleta de ferida de queimadura deve ser realizada após extensa limpeza e desbridamento da lesão. Biópsia da pele é a técnica mais recomendada para feridas de queimaduras.
- A cultura para anaeróbicos de feridas e abscessos deverá ser realizada através da aspiração com seringa e agulha, após descontaminação da superfície;
- Todo resultado liberado pelo Laboratório de Microbiologia é consequência da qualidade da amostra recebida. **COLETA e/ou TRANSPORTE INADEQUADOS** podem ocasionar falhas no isolamento do verdadeiro agente etiológico e favorecer o desenvolvimento de microbiota normal ou contaminante induzindo a tratamentos inapropriados;

11. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA-ANVISA. **Microbiologia clínica para o controle de infecção. Relacionada à assistência à saúde.** Módulo 4: Procedimentos Laboratoriais: da Requisição do Exame à Análise Microbiológica e Laudo Final. Brasília-DF,2013.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827pp.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.008 - Página 40/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE SECREÇÃO DE FERIDAS E ABCESSOS	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 24/05/2019 Ass.:	Nome: Comissão de Controle de Infecções Hospitalares	Data: 24/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.009 - Página 41/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE AMOSTRA PARA O DIAGNÓSTICO DE H1N1	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

POP 09: COLETA DE AMOSTRA PARA O DIAGNÓSTICO DE H1N1

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

Este exame é realizado para o diagnóstico de H1N1.

3. ABRANGÊNCIA

Todos os setores do HU-UNIVASF.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de enfermagem, enfermeiros e médicos.

5. OBJETIVO

Padronizar as técnicas de coleta para o diagnóstico de H1N1.

6. MATERIAL NECESSÁRIO:

Kit (swab + tubo com meio de transporte) disponível no Laboratório e EPI's que deverão ser utilizado no momento da coleta.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

- Lavar as mãos com água e sabão ou higienizá-las com álcool 70%;
- Calçar as luvas de procedimentos;
- Remover o excesso de secreção ou exsudato nasal, se houver;
- Serão utilizados três swabs, um em cada narina e o outro na orofaringe.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.009 - Página 42/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE AMOSTRA PARA O DIAGNÓSTICO DE H1N1	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

- **Swab nas narinas:** inserir, delicadamente, o swab em aproximadamente 2,5cm de uma das narinas ou até sentir resistência e fazer movimentos rotatórios no mesmo sentido por 10 a 15 segundos.
 - Remover o swab e colocá-lo em meio de transporte. Os dois swabs devem ser acondicionados dentro do mesmo tubo junto com o swab da orofaringe.
- **Swab orofaringe:** Introduzir o swab na área posterior da faringe e tonsilas, evitando tocar na língua.
 - Remover o swab da orofaringe e colocá-lo no tubo juntamente com os swabs nasais.
 - Encaminhar o material o mais rápido possível ao Laboratório.

8. INDICAÇÃO

O exame é realizado por indicação médica.

9. IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

O frasco deve estar identificado com a etiqueta de identificação disponibilizada pelo laboratório, onde irá conter os seguintes dados:

- Nome completo do paciente e nº do prontuário;
- Setor;
- Número da solicitação

10. OBSERVAÇÕES

- Todo resultado liberado pelo Laboratório de Microbiologia é consequência da qualidade da amostra recebida. **COLETA** e/ou **TRANSPORTE INADEQUADOS** podem ocasionar falhas no isolamento do verdadeiro agente etiológico e favorecer o desenvolvimento de microbiota normal ou contaminante induzindo a tratamentos inapropriados.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.009 - Página 43/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE AMOSTRA PARA O DIAGNÓSTICO DE H1N1	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

11. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA-ANVISA. **MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE. Módulo 4: Procedimentos Laboratoriais: da Requisição do Exame à Análise Microbiológica e Laudo Final.** Brasília-DF,2013.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica,** São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827pp.

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 24/05/2019 Ass.:	Nome: Comissão de Controle de Infecções Hospitalares	Data: 24/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.010 - Página 44/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE CULTURA DE VIGILÂNCIA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

POP 10: COLETA DE CULTURA DE VIGILÂNCIA

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

O exame de cultura de vigilância é utilizado para monitorar se o paciente está colonizado com bactérias multirresistentes.

3. ABRANGÊNCIA

Setor de UTI.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de enfermagem, enfermeiros e médicos

5. OBJETIVO

Padronizar as técnicas de coleta para o exame de cultura de vigilância.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Swab com meio de cultura para transporte, disponível no Laboratório; luvas de procedimento; óculos protetor; avental descartável; e touca.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

- Lavar as mãos com água e sabão ou higienizá-las com álcool 70%;
- Calçar as luvas de procedimentos;
- Remover o excesso de secreção ou exsudato nasal;

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.010 - Página 45/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE CULTURA DE VIGILÂNCIA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

- Serão utilizados dois swabs: um swab nasal, que será introduzido nas duas narinas e um swab retal;
- **Swab nasal:** inserir, delicadamente, o swab em aproximadamente 2,5cm de uma das narinas ou até sentir resistência e fazer movimentos rotatórios no mesmo sentido por 10 a 15 segundos. Este mesmo swab deve ser inserido na outra narina e realizar o mesmo procedimento;
- **Swab retal:** introduzir o swab no ânus, cerca de 1 a 2 cm e fazer movimentos rotatórios suaves por alguns segundos. Retirar o swab, **certificar que existe coloração fecal no algodão** e introduzir o swab no meio de transporte
- Encaminhar os swabs (nasal e retal) o mais rápido possível ao Laboratório.

8. INDICAÇÃO

O exame é realizado por indicação do enfermeiro ou do médico.

9. IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

O frasco deve estar identificado com a etiqueta de identificação disponibilizada pelo laboratório, onde irá conter os seguintes dados:

- Nome completo do paciente e nº do prontuário;
- Setor;
- Número da solicitação

10. OBSERVAÇÕES

- Todo resultado liberado pelo Laboratório de Microbiologia é consequência da qualidade da amostra recebida. **COLETA e/ou TRANSPORTE INADEQUADOS** podem ocasionar falhas no isolamento do verdadeiro agente etiológico e favorecer o desenvolvimento de microbiota normal ou contaminante induzindo a tratamentos inapropriados.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.010 - Página 46/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLETA DE CULTURA DE VIGILÂNCIA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

11. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA-ANVISA. **MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE. Módulo 4: Procedimentos Laboratoriais: da Requisição do Exame à Análise Microbiológica e Laudo Final.** Brasília-DF,2013.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica,** São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827p p.

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 24/05/2019 Ass.:	Nome: Comissão de Controle de Infecções Hospitalares	Data: 24/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.011 - Página 47/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE HEMOCULTURA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

1. SEMEIO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS PARA REALIZAÇÃO DE CULTURAS POP 11: SEMEIO DE HEMOCULTURA

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

O exame de hemocultura é realizado para detecção de infecções da corrente sanguínea.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, biólogos, biomédicos e bioquímicos.

5. OBJETIVO

Padronizar a técnica do semeio de amostras de hemoculturas positivas.

6. MATERIAIS NECESSÁRIOS

Amostra de hemocultura positiva, meios de cultura (Ágar Sangue e Ágar MacConkey), EPI (equipamento de proteção individual), câmara de fluxo, Aparelho Bactec Fx, alça descartável estéril (1ul - amarela para semeio), seringa, algodão, álcool a 70%.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.011 - Página 48/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE HEMOCULTURA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

- As amostras coletadas no setor solicitante, geralmente quatro, são levadas ao laboratório em FRASCOS de hemoculturas adequados (BD Bactec / Plus Aerobic) e identificadas;
- As amostras serão registradas no caderno de hemocultura e a identificação no frasco será realizada através da etiqueta do exame que será colocada no frasco mais o número correspondente do caderno de hemocultura (identificado para este fim);
- Após a identificação, os frascos, deverão ser inseridos no aparelho de hemocultura automatizado. Neste momento deverão ser lidos o código de barras do frasco, assim como o da identificação do paciente;
- Durante o período de incubação, quando amostra é positiva, o aparelho automatizado emitirá um alarme sonoro e um alerta visual caracterizado por luz vermelha. Assim que identificada a luz, a amostra deverá ser retirada do aparelho e o código de barras do frasco e do paciente deverá ser lido, antes de retirá-lo do equipamento;
 - Registrar no caderno de hemoculturas a amostra que positivou;
 - Ligar a câmara de fluxo laminar, colocar a amostra e iniciar o semeio;
 - Identificar as placas (Ágar Sangue e Ágar MacConkey) com o registro do paciente do caderno, iniciais do nome do paciente, com o nome hemocultura seguido pelo número do frasco (1,2,3 ou 4) e a data de semeio;
 - Com o auxílio de um algodão umedecido com álcool a 70%, fazer a assepsia da parte superior do frasco (tampa);
 - Homogeneizar a amostra;
 - Introduzir uma seringa no frasco a fim de coletar um pouco da amostra de sangue positiva;
 - A amostra deverá ser semeada nas placas que contém os meios de culturas (Ágar Sangue e Ágar MacConkey respectivamente); Para isso, coloca-se uma gota de sangue no ágar sangue e uma gota de sangue no ágar MacConkey e com auxílio da alça descartável estéril realizar semeio da placa por esgotamento, de preferência semeio realizado em três direções diferentes;

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.011 - Página 49/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE HEMOCULTURA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

- A placa de ágar sangue deverá ser incubada na jarra com vela (atmosfera de CO₂), se possível, e as placas deverão ser colocadas na estufa a 37°C;
- Realizar leitura da placa semeada a cada 24 horas por um período de dois dias;

8. RESULTADOS

- Positivo: Presença de crescimento bacteriano no meio de cultura;
- Negativo: Ausência de crescimento bacteriano;

9. REFERÊNCIAS

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827pp.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.011 - Página 50/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE HEMOCULTURA	Emissão: 24/05/2019
		Revisão: 0

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 24/05/2019 Ass.:	Nome: Eddiê Aparecida C. O. Silva Cargo: Biomédica Data: 24/05/2019 Ass.:	Data: 24/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.012 - Página 51/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE UROCULTURA	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

POP 12: SEMEIO DE UROCULTURA

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

O exame de urocultura é realizado para detecção de infecções do trato urinário.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Padronizar a técnica do semeio de amostras de uroculturas.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Amostra de urina, meio de cultura (CLED ou CROMOGÊNICO), EPI (equipamento de proteção individual), câmara de fluxo laminar, alça descartável estéril (1ul – alça amarela e 10uL – alça azul).

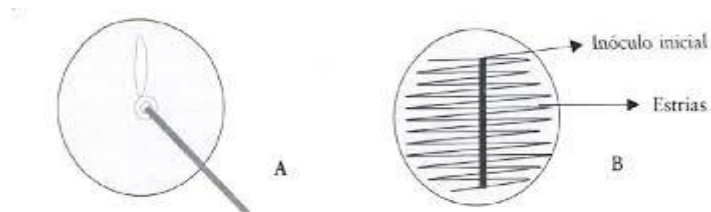
7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO:

- A amostra de urina ideal é a proveniente de uma coleta estéril de jato médio ou por sonda vesical de demora ou de alívio;

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.012 - Página 52/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE UROCULTURA	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- A amostra deve estar em um coletor estéril (tampa vermelha) e deve ser levada, assim que coletada, ao setor do Laboratório com a identificação do paciente;
- Registrar a urina no caderno, colocar o nome do paciente, o prontuário, o número de solicitação e a data do semeio;
- Assim que registrado, levar a urina para a câmara de fluxo laminar e ligá-la.
- A urina deverá ser semeada na placa que contém o meio de cultura (CLED ou cromogênico) e identificada com o registro do paciente do caderno, iniciais do nome do paciente e a data de semeio;
- Após identificada a placa, deve-se homogeneizar a amostra e introduzir a alça descartável de 1uL (amarela) na urina coletando a urina em questão.
- O semeio deverá ser realizado de forma quantitativa (em superfície – rede) no meio CLED ou cromogênico;

Fig.1 – Semeio em “rede”



- Desprezar a alça descartável;
- Guardar a placa semeada em estufa de crescimento a 37°C;
- Após a realização do semeio deverá ser realizada um gram da gota da urina. Homogeneizar a urina total e atrás do bico de Busen, com o auxílio da alça bacteriológica de 10uL, colocar uma gota da urina sobre uma lâmina, sem espalhar;
- Deixar secar dentro da cabine e fixar no calor brando do bico de Bunsen (chama azulada) por 3 vezes.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.012 - Página 53/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE UROCULTURA	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- Guardar amostra de urina na geladeira para eventual repetição;
- Realizar leitura da placa semeada de urocultura a cada 24 horas por um período de dois dias;

8. RESULTADOS

- Positivo: Presença de crescimento bacteriano no meio de cultura;
- Negativo: Ausência de crescimento bacteriano;

9. REFERÊNCIAS

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827pp.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.012 - Página 54/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE UROCULTURA	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Edilayne Barbosa Mariz e Cruz Cargo: Biomédica Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 24/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.013 - Página 55/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DE PARTES MOLES	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

POP 13: SEMEIO DE PARTES MOLES

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

O exame de partes moles é utilizado para o diagnóstico de infecções em diferentes partes do corpo.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Padronizar a técnica do semeio de amostras de partes moles.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Fragmento de partes moles, meios de cultura (Ágar Sangue, Ágar MacConkey e BHI - Brain Heart Infusion), EPI (equipamento de proteção individual), câmara de fluxo, alça descartável estéril (1ul - amarela para semeio), estufa de crescimento 37°C, pinça metálica, bico de Bülsen.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO:

- A amostra colhida no setor solicitante é enviada ao laboratório para semeio.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.013 - Página 56/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DE PARTES MOLES	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- A amostra deverá estar em um coletor estéril apropriado que deverá ser encaminhado ao setor do Laboratório com identificação do paciente nome, prontuário, solicitação e identificação do material coletado;
 - Registrar a amostra no caderno, colocar o nome do paciente, o prontuário, o número de solicitação, a data do semeio e identificação do material;
 - Ligar a câmara de fluxo laminar e colocar a amostra;
 - Identificar as placas que contém os meios de culturas (Ágar Sangue e Ágar MacConkey) com o registro do paciente do caderno, iniciais do nome do paciente, a data de semeio e informar qual é o material;
 - Assim que identificadas as placas, observar se o recipiente contém líquido em seu interior. Retirar uma alçada do líquido com a alça descartável (1uL – alça amarela) e realizar o semeio por esgotamento, nas placas contendo meios de culturas (Ágar Sangue e Ágar MacConkey);
 - A placa de ágar sangue deverá ser incubada na jarra com vela (atmosfera de CO₂), se possível. As placas deverão ser colocadas na estufa a 37°C;
 - Após o semeio das placas, colocar o caldo BHI dentro do recipiente contendo a peça e levar para estufa a 37°C por 24h;
 - Realizar leitura das placas semeadas e as placas semeadas do recipiente contendo o caldo a cada 24horas por um período de dois dias;
 - Caso a amostra não contenha líquido no interior do recipiente, com o auxílio de uma pinça metálica previamente flambada, deve-se retirar a peça de dentro do recipiente e realizar um “print” da mesma nos meios de cultura (Ágar Sangue e Ágar MacConKey) e proceder ao semeio por esgotamento de ambas as placas, respectivamente, com o auxílio da alça estéril amarela.
 - Após o semeio das placas, colocar o caldo BHI dentro do recipiente contendo a peça e levar para estufa a 37°C;

8. RESULTADOS

- Positivo: Presença de crescimento bacteriano no meio de cultura;

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.013 - Página 57/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DE PARTES MOLES	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- Negativo: Ausência de crescimento bacteriano;

9. REFERÊNCIAS

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827pp.

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Edilayne Barbosa Mariz e Cruz Cargo: Biomédica Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.014- Página 58/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DA PONTA DO CATETER	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

POP 14: SEMEIO DA PONTA DO CATETER

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

É indicado para detectar infecções relacionadas a cateteres que geralmente apresentam no seu lugar e inserção sinais inflamatórios.

A técnica utilizada pelo laboratório de Análises Clínicas do HU-UNIVASF é a semi-quantitativa de Meki et al., que será descrita abaixo.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Padronizar a técnica do semeio de amostras de ponta do cateter.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Ponta de cateter, meio de cultura (Ágar Sangue), EPI (equipamento de proteção individual), câmara de fluxo, pinça, estufa de crescimento 37°C, pinça metálica, bico de Bülsen.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.014- Página 59/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DA PONTA DO CATETER	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- Retirar o cateter do fasco estéril com o auxílio de uma pinça estéril, cortar o cateter se esse for maior que 5 centímetros com o auxílio da alça bacteriológica quente;

- Coloca na superfície do ágar sangue;

- Com o auxílio da pinça esterelizada, rolar o cateter por toda superfície do meio. Para frente e para trás duas vezes. É importante observar, no momento da semeadura, que o cateter esteja sendo rolado na placa e não esfregado, pois o ato de rolar faz com que sejam obtidas colônias isoladas.

- Incubar a 37°C, por 24 h. Se possível, incubara placa de ágar sangue na jarra de anaerobiose

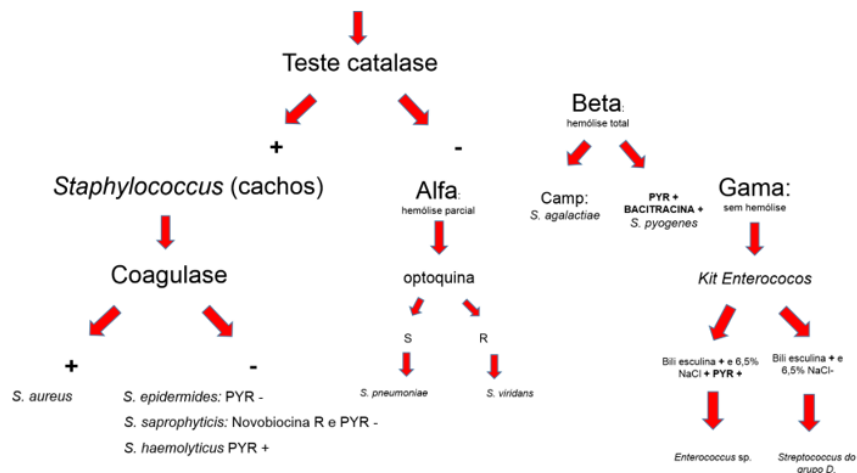
-Após 24 h de incubação, realiza-se a primeira leitura. Se não houver crescimento, incubar a placa novamente por mais 24 h. Após 48 h de incubação, as placas que não apresentaram crescimento de micro-organismos devem ser descartadas e o exame liberado no sistema como NEGATIVA.

- Se houver presença de colônias de micro-organismos, realizar simultaneamente a coloração de Gram e o repique para o Ágar Sangue e Ágar MacConkey e incubar por 24 h. Após o período de incubação do repique realizar os testes de identificação. Se a bactéria for GRAM POSITIVA, seguir o fluxograma descrito para identificação de bactérias gram positiva. Se a bactéria for GRAM NEGATIVA, fazer o teste de oxidase. Se o teste de oxidase for negativo, utilizar o kit para identificação de Enterobactérias, se a oxidase for positiva, utilizar o kit para bactérias não fermentadoras (NF), conforme o fluxograma da Fig. 02.

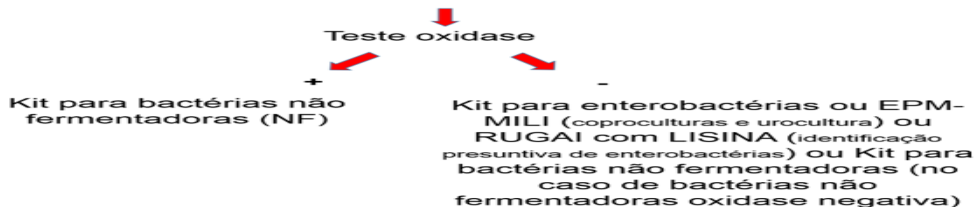
- Se o cateter não for o venoso central e for outro tipo de cateter, o mesmo deve ser colocado no frasco tipo Falcon contendo BHI e incubado por 24h. Após o período de incubação, com o auxílio da alça, o caldo do BHI deve ser semeado em placa contendo ágar sangue e incubado em estufa à 37 °C, por 24 h. Se a amostra for positiva, seguir os passos de identificação descritos abaixo.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.014- Página 60/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DA PONTA DO CATETER	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

Identificação de bactérias cocos gram positivos (GRAM +)



Identificação de bactérias gram negativas (GRAM -)



8. RESULTADOS

- Positivo: Presença de crescimento bacteriano no meio de cultura maior ou igual a 15 colônias;
- Negativo: Ausência de crescimento bacteriano;

9. REFERÊNCIAS

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.014- Página 61/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DA PONTA DO CATETER	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827p.

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Edilayne Barbosa Mariz e Cruz Cargo: Biomédica Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.015 - Página 62/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DE ABSCESSOS, SECREÇÕES E BIÓPSIAS	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

POP 15: PROTOCOLO DE SEMEIO DE ABSCESSOS, SECREÇÕES E BIÓPSIAS

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

É indicado para detectar infecções relacionadas a cateteres que geralmente apresentam no seu lugar e inserção sinais inflamatórios.

A técnica utilizada pelo laboratório de Análises Clínicas do HU-UNIVASF é a semi-quantitativa de Meki et al., que será descrita abaixo.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Padronizar a técnica do semeio de amostras de ponta do cateter.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Ponta de cateter, meio de cultura (Ágar Sangue), EPI (equipamento de proteção individual), câmara de fluxo, pinça, estufa de crescimento 37°C, pinça metálica, bico de Bülsen.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.015 - Página 63/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DE ABSCESSOS, SECREÇÕES E BIÓPSIAS	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- Retirar o cateter do fasco estéril com o auxílio de uma pinça estéril, cortar o cateter se esse for maior que 5 centímetros com o auxílio da alça bacteriológica quente;

- Coloca na superfície do ágar sangue;

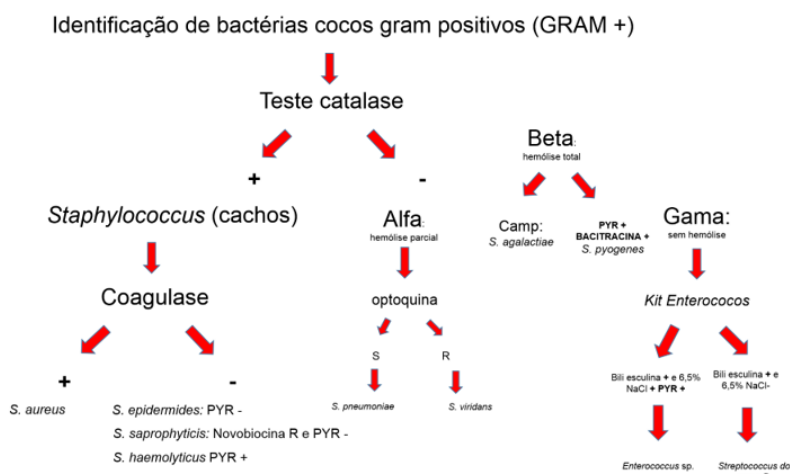
- Com o auxílio da pinça esterelizada, rolar o cateter por toda superfície do meio. Para frente e para trás duas vezes. É importante observar, no momento da semeadura, que o cateter esteja sendo rolado na placa e não esfregado, pois o ato de rolar faz com que sejam obtidas colônias isoladas.

- Incubar a 37°C, por 24 h. Se possível, incubara placa de ágar sangue na jarra de anaerobiose

-Após 24 h de incubação, reliza-se a primeira leitura. Se não houver crescimento, incubar a placa novamente por mais 24 h. Após 48 h de incubação, as placas que não apresentaram crescimento de micro-organismos devem ser descartadas e o exame liberado no sistema como NEGATIVA.

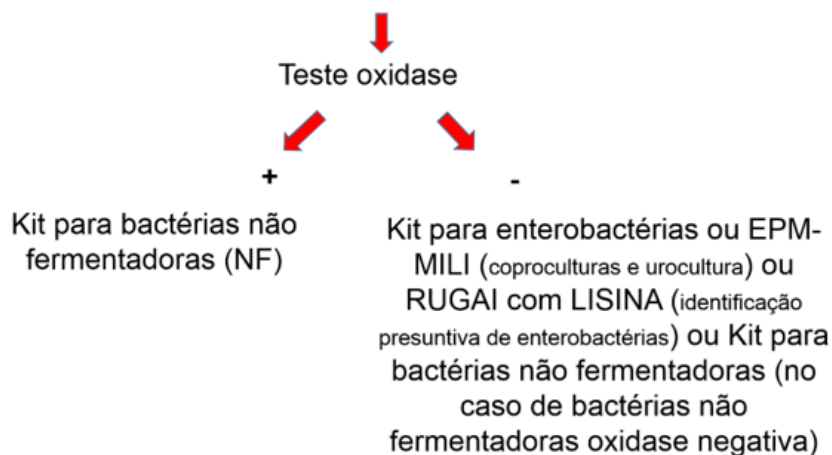
- Se houver presença de colônias de micro-organismos, realizar simultaneamene a coloração de Gram e o repique para o Ágar Sangue e Ágar MacConkey e incubar por 24 h. Após o período de incubação do repique realizar os testes de identificação. Se a bactéria for GRAM POSITIA, seguir o fluxograma descrito para identificação de batérias gram positiva. Se a batéria for GRAM NEGATIVA, fazer o teste de oxidase. Se o teste de oxidase fo negativo, utilizar o kit para identificação de Enterobactérias, se a oxidase for positiva, utilizar o kit para bactérias não fermentadoras (NF), conforme o fluxograma da Fig. 02.

- Se o cateter não for o venoso central e for outro tipo de cateter, o mesmo deve ser colocado no frascoco tipo Falcon contendo BHI e incubado por 24h. Após o período de incubação, com o auxílio da alça, o caldo do BHI deve ser semeado em placa contendo ágar sangue e incudo em estufa à 37 °C, por 24 h. Se a amostra for positiva, seguir os passos de identificação descritos abaixo.



SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.015 - Página 64/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DE ABSCESSOS, SECREÇÕES E BIÓPSIAS	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

Identificação de bactérias gram negativas (GRAM -)



8. RESULTADOS

- Positivo: Presença de crescimento bacteriano no meio de cultura maior ou igual a 15 colônias;
- Negativo: Ausência de crescimento bacteriano;

9. REFERÊNCIAS

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.015 - Página 65/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DE ABSCESSOS, SECREÇÕES E BIÓPSIAS	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.**

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Eddiê Aparecida C. O. Silva Cargo: Biomédica Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabrcio Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.016 - Página 66/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DE SECREÇÃO TRAQUEAL	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

É indicado para o diagnóstico de infecções em abscessos, feridas e biópsias.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Padronizar a técnica do semeio de amostras de abscessos, feridas e biópsias.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Materiais biológicos, meios de cultura (Ágar Sangue, Ágar MacConkey e BHI - Brain Heart Infusion), EPI (equipamento de proteção individual), câmara de fluxo, alça descartável estéril (1ul - amarela para semeio), estufa de crescimento 37°C, pinça metálica e bico de Bülsen.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

- Swab com meio de transporte (secreções)

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.016 - Página 67/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DE SECREÇÃO TRAQUEAL	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- Na capela de fluxo laminar, abrir o swab e fazer o semeio na parte superior da placa e com a auxílio da alça continuar o semeio por esgotamento em placas contendo ágar sangue (AS) e Macconkey (MC).

- Seringa (Abscesso)

- Inocular diretamente em AS e MC e semear por esgotamento.

- Biópsia

- Observar se o recipiente onde está o fragmento de biópsia contém líquido em seu interior. Retirar uma alçada do líquido com a alça descartável (1uL – alça amarela) e realizar o semeio por esgotamento, nas placas contendo meios de culturas (Ágar Sangue e Ágar MacConkey);

- Após o semeio das placas, colocar o caldo BHI dentro do recipiente contendo a peça e levar para estufa a 37°C por 24h;

- Em todos os casos (swab com meio de transporte, seringa (abscesso) e biópsia) as placas após o semeio devem ser incubadas em estufa à 37°C, por 48h. A placa de ágar sangue deverá ser incubada na jarra com vela (atmosfera de CO₂), se possível.

- Após 24h de incubação, realizar a primeira leitura. Se não houver crescimento, incubar a placa novamente por mais 24h. Após 48h de incubação, as placas que não apresentaram crescimento de microrganismos devem ser descartadas e o exame liberado no sistema como NEGATIVA.

- Se houver presença de colônias de microrganismos, realizar simultaneamente a coloração de Gram e o repique para o Ágar Sangue e Ágar MacConkey e incubar por 24h°C. Após o período de incubação do repique realizar os testes de identificação. Se a bactéria for GRAM POSITIVA, seguir o fluxograma descrito na Fig. 02. Se a bactéria for GRAM NEGATIVA, fazer o teste de oxidase. Se o teste de oxidase for negativo, utilizar o Kit para identificação de Enterobactérias, se a oxidase for positivo, utilizar o kit para bactérias não fermentadoras (NF), conforme a Fig. 03.

- Para utilização dos Kits deverão ser lidas as bulas que os acompanham, pois, cada kit apresenta uma forma de inoculação.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.016 - Página 68/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DE SECREÇÃO TRAQUEAL	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

Fig. 02: Fluxograma utilizado para identificação de bactérias gram positivas.

Identificação de bactérias cocos gram positivos (GRAM +)

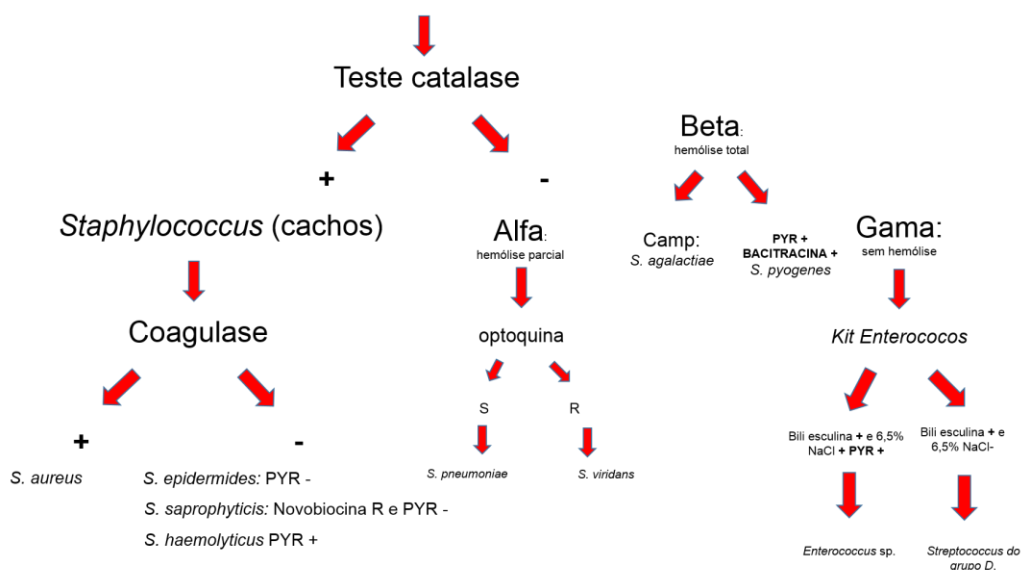
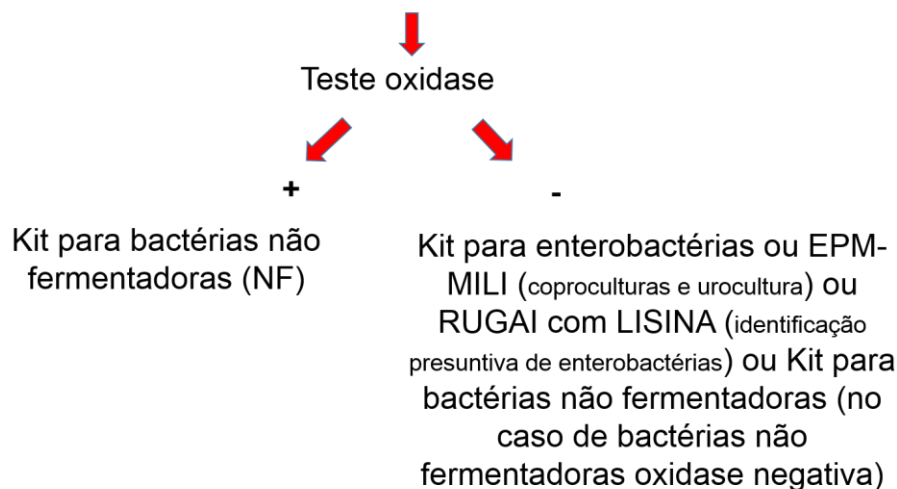


Fig. 03: Fluxograma utilizado para identificação de bactérias gram negativas.

Identificação de bactérias gram negativas (GRAM -)



SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.016 - Página 69/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DE SECREÇÃO TRAQUEAL	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

8. RESULTADOS

- Positivo: Presença de crescimento bacteriano no meio de cultura;
- Negativo: Ausência de crescimento bacteriano;

9. REFERÊNCIAS

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827pp.

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Eddiê Aparecida C. O. Silva Cargo: Biomédica Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.016 - Página 70/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DE SECREÇÃO TRAQUEAL	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

POP 16: SEMEIO DE SECREÇÃO TRAQUEAL

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

É indicado para o diagnóstico de infecções do trato respiratório baixo, principalmente para o diagnóstico de pneumonia associada a ventilação mecânica (PAV).

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Padronizar a técnica do semeio de amostras de Secreção Traqueal.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Secreção traqueal, meios de cultura (Ágar Sangue, Ágar Chocolate e Ágar MacConkey), EPI (equipamento de proteção individual), câmara de fluxo, alças descartáveis estéreis (10ul – azul para diluição e 1ul - amarela para semeio), tubo estéril com 9,9mL de soro fisiológico e o agente mucolítico (N-acetil-L-Cisteína)

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.016 - Página 71/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DE SECREÇÃO TRAQUEAL	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- A amostra colhida no setor solicitante é enviada ao laboratório para semeio.
- A amostra deve estar em um coletor estéril apropriado para secreção traqueal (Bronquinho) que deverá ser levado ao setor do Laboratório com identificação do paciente;
- Registrar a secreção traqueal no caderno, colocar o nome do paciente, o prontuário, o número de solicitação e a data do semeio;
- Após o cadastro, misturar a amostra junto ao agente mucolítico na proporção de 5mL de escarro para meia ampola de N-acetil-L-cisteína a 10%, por 2 horas, na estufa bacteriológica.
- Após as duas horas, ligar a câmara de fluxo laminar e colocar a amostra;
- A secreção traqueal deverá ser semeada nas placas que contém os meios de culturas (Ágar Sangue, Ágar Chocolate e Ágar MacConkey) e identificadas com o registro do paciente do caderno, iniciais do nome do paciente e a data de semeio;
- Assim que identificadas as placas, retira-se uma alçada da secreção traqueal, misturada com o agente mucolítico, com a alça descartável (10ul – alça azul) e coloca-se o conteúdo em um tubo tipo Falcon contendo 9,9 de salina e leva-se ao vórtex para homogeneização (3 vezes de 10 segundos em média).
- Após a homogeneização, retira-se uma alçada (1ul – alça amarela) e semeia as placas, sendo uma alçada para cada placa contendo os meios Ágar Sangue, Ágar Chocolate e Ágar MacConkey.
- A placa de ágar sangue e ágar chocolate deverão ser incubadas na jarra com vela (atmosfera de CO₂), se possível, e as mesmas deverão ser colocadas na estufa a 37°C.
- Realizar leitura da placa semeada a cada 24 horas por um período de dois dias;

OBS: o tubo com 9,9mL de salina deverá estar a temperatura ambiente antes de ser inoculado o material biológico.

8. RESULTADOS

- Positivo: contagens acima de 1.000.000, ou seja, acima de 100 colônias na placa deverão ser consideradas como processo infeccioso.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.016 - Página 72/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DE SECREÇÃO TRAQUEAL	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- Negativo: Ausência de crescimento bacteriano;

9. REFERÊNCIAS

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827pp.

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Eddiê Aparecida C. O. Silva Cargo: Biomédica Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.017 - Página 73/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DE ESCARRO	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

POP 17: SEMEIO DE ESCARRO

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

É indicado para o diagnóstico de infecções do trato respiratório alto, principalmente pneumonias da comunidade.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Padronizar a técnica do semeio de amostras de escarro.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Escarro, meios de cultura (Ágar Sangue, Ágar Chocolate e Ágar MacConkey), EPI (equipamento de proteção individual), câmara de fluxo, alça descartável estéril (1ul – amarela para semeio) e o agente mucolítico (N-acetil-L-cisteína a 10%)

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.017 - Página 74/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DE ESCARRO	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

ANÁLISE MACROSCÓPICA:

- Verificar se a amostra é saliva ou secreção (presença de massa mucoide). Se for saliva, recusar a amostra.

ANÁLISE MICROSCÓPICA:

- **Critério de rejeição: > 10 células epiteliais p/c no aumento de 100x**
- **Critério de aceitação: > 25PMN p/c no aumento de 100x**

SEMEIO DO ESCARRO PARA CULTURA

- A amostra colhida no setor solicitante é enviada ao laboratório para semeio.
- A amostra deve estar em um coletor estéril apropriado para escarro (coletor universal da tampa vermelha) que deverá ser levado ao setor do Laboratório com identificação do paciente;
 - Registrar o escarro no caderno, colocar o nome do paciente, o prontuário, o número de solicitação e a data do semeio;
 - Após o cadastro, misturar a amostra junto ao agente mucolítico na proporção de 5mL de escarro para meia ampola de N-acetil-L-cisteína a 10%, por 2horas, na estufa bacteriológica.
 - Após as duas horas, ligar a câmara de fluxo laminar e colocar a amostra;
 - Preparar a lâmina para coloração de Gram e realizar o semeio da amostra.
 - O escarro deverá ser semeado nas placas que contém os meios de culturas (Ágar Sangue, Ágar Chocolate e Ágar MacConkey) e identificadas com o registro do paciente do caderno, iniciais do nome do paciente e a data de semeio;
 - Assim que identificada as placas, retira-se uma alçada, com a alça amarela e semeia nos meios Ágar Sangue, Ágar Chocolate e Ágar MacConkey.
 - A placa de ágar sangue e ágar chocolate deverão ser incubadas na jarra com vela (atmosfera de CO₂), se possível, e as mesmas deverão ser colocadas na estufa a 37°C.
 - Realizar leitura da placa semeada a cada 24horas por um período de dois dias;

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.017 - Página 75/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE SEMEIO DE ESCARRO	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

8. RESULTADOS

- Positivo: Presença de crescimento bacteriano no meio de cultura;
- Negativo: Ausência de crescimento bacteriano;

9. REFERÊNCIAS

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827pp.

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Eddiê Aparecida C. O. Silva Cargo: Biomédica Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabrcio Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.020 - Página 76/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE PROVA DE CATALASE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

POP 18: SEMEIO DO LAVADO BRONCOALVEOLAR E BRÔNQUICO

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

É indicado para o diagnóstico de infecções do trato respiratório baixo.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Padronizar a técnica do semeio das amostras de lavado broncoalveolar e brônquico.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Lavado broncoalveolar e brônquico, meios de cultura (Ágar Sangue, Ágar Chocolate e Ágar MacConkey), EPI (equipamento de proteção individual), câmara de fluxo e alça descartável de 1ul - amarela para semeio.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

- A amostra colhida no setor solicitante é enviada ao laboratório para semeio.
- A amostra deve estar em um coletor estéril apropriado que deverá ser levado ao setor do Laboratório com identificação do paciente;

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.020 - Página 77/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE PROVA DE CATALASE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- Registrar a amostra no caderno, colocar o nome do paciente, o prontuário, o número de solicitação e a data do semeio;

- A amostra deverá ser semeada nas placas que contém os meios de culturas (Ágar Sangue, Ágar Chocolate e Ágar MacConkey) e identificadas com o registro do paciente do caderno, iniciais do nome do paciente e a data de semeio;

- Assim que identificada as placas, retira-se uma alçada com a alça descartável (1ul – alça amarela) e semeia nas placas, sendo uma alçada para cada placa contendo os meios Ágar Sangue, Ágar Chocolate e Ágar MacConkey.

- A placa de ágar sangue e ágar chocolate deverão ser incubadas na jarra com vela (atmosfera de CO₂), se possível, e as mesmas deverão ser colocadas na estufa a 37°C.

- Realizar leitura da placa semeada a cada 24horas por um período de dois dias;

8. RESULTADOS

- Positivo: Acima de 10 colônias deverá ser considerado processo infeccioso.
- Negativo: Ausência de crescimento bacteriano;

9. REFERÊNCIAS

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827pp.

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019	Nome: Eddiê Aparecida C. O. Silva Cargo: Biomédica	Data: 27/05/2019

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.020 - Página 78/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE PROVA DE CATALASE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

Ass.:	Data: 27/05/2019 Ass.:	
-------	---------------------------	--

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabrcio Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

POP 19: SEMEIO DO ESCOVADO BRÔNQUICO

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

É indicado para o diagnóstico de infecções do trato respiratório baixo.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.020 - Página 79/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE PROVA DE CATALASE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

5. OBJETIVO

Padronizar a técnica do semeio das amostras de escovado brônquico.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Escovado brônquico, meios de cultura (Ágar Sangue, Ágar Chocolate e Ágar MacConkey), EPI (equipamento de proteção individual), câmara de fluxo e alça descartável de 1ul - amarela para semeio.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

- A amostra colhida no setor solicitante é enviada ao laboratório para semeio.
- A amostra deve estar em um coletor estéril apropriado que deverá ser levado ao setor do Laboratório com identificação do paciente;
 - Registrar a amostra no caderno, colocar o nome do paciente, o prontuário, o número de solicitação e a data do semeio;
 - A amostra deverá ser semeada nas placas que contém os meios de culturas (Ágar Sangue, Ágar Chocolate e Ágar MacConkey) e identificadas com o registro do paciente do caderno, iniciais do nome do paciente e a data de semeio;
 - Assim que identificada as placas, retira-se uma alçada com a alça descartável (1ul – alça amarela) e semeia nas placas, sendo uma alçada para cada placa contendo os meios Ágar Sangue, Ágar Chocolate e Ágar MacConkey.
 - A placa de ágar sangue e ágar chocolate deverão ser incubadas na jarra com vela (atmosfera de CO₂), se possível, e as mesmas deverão ser colocadas na estufa a 37°C.
 - Realizar leitura da placa semeada a cada 24 horas por um período de dois dias;

8. RESULTADOS

- Positivo: Qualquer crescimento deverá ser considerado processo infeccioso.
- Negativo: Ausência de crescimento bacteriano;

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.020 - Página 80/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE PROVA DE CATALASE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

9. REFERÊNCIAS

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827pp.

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Eddiê Aparecida C. O. Silva Cargo: Biomédica Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.020 - Página 81/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE PROVA DE CATALASE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

2. TESTES DE IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS GRAM POSITIVAS

POP 20: PROVA DA CATALASE

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

O teste de catalase é um teste bioquímico rápido para identificação de bactérias gram positivas, que consiste em colocar uma amostra da bactéria em contato com o peróxido de hidrogênio, e pesquisar a formação de bolhas de oxigênio.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Verificar a presença da enzima catalase que decompõe H_2O_2 (água oxigenada ou peróxido de hidrogênio) em água e O_2 e, desta forma, diferenciar os grupos estafilococos e estreptococos.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

- Lâminas;
- EPI (equipamento de proteção individual);
- Alças bacteriológicas descartáveis de 1 μ L

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.020 - Página 82/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE PROVA DE CATALASE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- Água oxigenada (Peróxido de hidrogênio).

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

- Dispor todos os materiais necessários dentro da capela de fluxo laminar;
- Com a alça bacteriológica descartável, retirar uma colônia de uma Placa de Petri que já tenha sido incubada e realizada sua leitura;
 - Transferir a colônia para uma extremidade da lâmina;
 - Obs: uma única lâmina pode ser usada para vários testes da catalase com diferentes colônias, por isso é importante saber utilizar o espaço da superfície da lâmina;
 - Colocar algumas gotas de água oxigenada (peróxido de hidrogênio) sobre a colônia;

8. RESULTADO

Leitura:

Observar se houve ou não a produção e liberação de O₂, fato que será caracterizado pela formação de bolhas de gás.

Interpretação:

CATALASE NEGATIVA (-): Não há efervescência, ou seja, não ocorre a liberação de O₂.

CATALASE POSITIVA (+): Ocorre efervescência devido a liberação de O₂.

9. REFERÊNCIAS

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed,2003.827p.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.020 - Página 83/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE PROVA DE CATALASE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Eddiê Aparecida C. O. Silva Cargo: Biomédica Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.021 - Página 84/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE PROVA DE COAGULASE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

POP 21: PROVA DE COAGULASE

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

A atividade da coagulase é utilizada para distinguir espécies patogênicas de *Staphylococcus* de espécies não patogênicas, sendo um bom indicador da patogenicidade do *S. aureus*. O teste de tubo pode detectar a presença de ambos os tipos de coagulase.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Verificar se o micro-organismo possui a enzima coagulase (ou fator aglutinante) livre e ligada, que, reagindo com um fator plasmático, forma um complexo que atua no fibrinogênio do plasma formando a fibrina.

6. MATERIAL NECESSÁRIO:

- Solução fisiológica (SF) estéril
- Tubos de vidro estéril;
- Ponteiros estéreis: ponteira (1000 µL) azul;
- EPI (equipamento de proteção individual);

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.021 - Página 85/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE PROVA DE COAGULASE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- Alças descartáveis de 1 µL
- Estante para tubos;
- Plasma de coelho liofilizado;
- Pincel para identifica os tubos.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO:

- Dispor todos os materiais necessários dentro da capela de fluxo laminar;
- Abrir a ampola contendo o plasma de coelho liofilizado e inserir 3 mL de solução fisiológica;
- Aguardar o pó dissolver completamente até formar uma solução;
- Após completa dissolução do pó, transferir 500 µL da solução para os tubos e tampá-los;
- É importante identificar cada tubo com a mesma identificação da placa de Petri, a qual contém o micro-organismo a ser testado;
 - Com a alça descartável coletar uma colônia da placa de Petri e transferir para o tubo;
 - Dissolver bem a colônia coletada (atritando a ponta da alça nas paredes do tubo) de preferência com o tubo inclinado em mais ou menos 45 °;
 - Incubar o tubo a 37° C, observar o mesmo inclinando-o para os lados suavemente a cada 30 minutos durante 4h (ou até um máximo de 24h) procurando a formação de um coágulo, que caracteriza a positividade da prova.

8. RESULTADO:

Leitura

Formação de coágulo observada pela inclinação suave.

Interpretação

- Formação de coágulo inteira ou parcial, identifica *Staphylococcus aureus*;
- Não há formação de coágulo, identifica *Staphylococcus* coagulase negativa.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.021 - Página 86/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE PROVA DE COAGULASE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

9. REFERÊNCIAS

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827pp.

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Eddiê Aparecida C. O. Silva Cargo: Biomédica Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.023 - Página 87/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/TUBERCULOSE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

3. COLORAÇÕES REALIZADAS NO SETOR DE MICROBIOLOGIA

POP 22: COLORAÇÃO DE GRAM

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

A coloração é utilizada para classificar as bactérias com base na morfologia e na reação à coloração pelo método de Gram.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Padronizar a técnica de coloração de gram.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Amostras biológicas

Solução fisiológica (SF) estéril

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.023 - Página 88/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/TUBERCULOSE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

Lâminas microscópicas;
Alças descartáveis de 1 µL

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTOS

Amostras em que serão realizadas a coloração de GRAM: todas as amostras que chegam no laboratório de microbiologia devem ser realizadas a coloração de gram. Amostras obtidas após a aspiração, fragmentos de tecidos e biópsias, líquidos orgânicos em geral, secreções, colônias de bactérias com crescimento em meio sólidos (colônias com no máximo 48h) e frascos de hemoculturas.

Todo o procedimento de coloração deverá ser realizado na Cabine de Segurança Biológica para proteger o operador e o restante das pessoas que trabalham no setor. O bico de Bulsen deverá estar ligado para melhor proteção no procedimento.

Amostra de aspirados, exsudatos e fezes:

- Se a amostra for recebida em seringa, transferir para um tubo estéril, homogeneizar e fazer um esfregaço em lâmina. Se a amostra for muito espessa, diluir em solução fisiológica estéril antes de fazer o esfregaço.

- Nas amostras recebidas em frascos ou tubos estéreis, selecionar a parte mais purulenta e confeccionar o esfregaço em lâmina. Espalhar a amostra em ¼ da lâmina para formar um esfregaço fino;

- Deixar secar dentro da cabine e fixar no calor brando do bico de Bulsen (chama azulada) por 3 vezes.

Amostras que requerem centrifugação:

- Após centrifugação (3.000 a 5.000 rpm/15min), remover o sobrenadante e deixar aproximadamente 0,5ml do sedimento;

- Homogeneizar e confeccionar o esfregaço;

- Para aumentar a concentração do líquido, adicionar uma segunda gota do sedimento na mesma área onde foi colocado o material anterior;

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.023 - Página 89/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/TUBERCULOSE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- Deixar secar dentro da cabine e fixar no calor brando do bico de Bulsen (chama azulada) por 3 vezes.

Amostra de urina:

Urina de jato médio

- Homogenizar a urina total, e atrás do bico de Bulsen, com o auxílio da alça bacteriológica devidamente flambada, colocar uma gota da urina sobre uma lâmina, sem espalhar;

- Deixar secar dentro da cabine e fixar no calor brando do bico de Bulsen (chama azulada) por 3 vezes.

Biópsias e tecidos:

- Fragmentar com o auxílio de um bisturi estéril;

- Retirar um fragmento da amostra e comprimir várias vezes em uma área da lâmina.

- Deixar secar dentro da cabine e fixar no calor brando do bico de Bulsen (chama azulada) por 3 vezes.

Esfregaços provenientes de meios de cultura líquidos:

- **Cultura em caldo:** com o auxílio de uma alça transferir uma gota da amostra para uma lâmina, deixar secar ao ar e fixar no calor.

- **Hemocultura:** limpar com gaze e álcool 70% a boca do frasco, homogeneizar o frasco e com o auxílio de uma seringa, aspirar uma pequena quantidade da amostra e colocar uma ou duas gotas espalhando sobre a lâmina, deixar secar dentro da cabine e fixar no calor brando do bico de Bulsen (chama azulada) por 3 vezes.

Esfregaços de colônias:

- Colocar uma pequena gota de solução fisiológica sobre a lâmina;

- Com uma alça, tocar na borda de uma colônia isolada e misturar gentilmente na gota de solução fisiológica colocada sobre a lâmina;

- Deixar secar dentro da cabine e fixar no calor brando do bico de Bulsen (chama azulada) por 3 vezes.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.023 - Página 90/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/TUBERCULOSE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

Procedimento para coloração:

- Fixar o esfregaço no calor;
- Cobrir o esfregaço com violeta de genciana e deixar durante 30 segundos;
- Lavar com água corrente retirando o excesso de corante;
- Cobrir o esfregaço com lugol e deixar por 30 segundos;
- Lavar com água corrente;
- Descorar com álcool-acetona (mais ou menos 5 segundos) até que não escorra mais a violeta (cuidado para não descorar demais);
- Lavar com água corrente.
- Cobrir o esfregaço com fucsina fenicada.
- Deixar durante 30 segundos.
- Lavar com água corrente e secar ao ar ou com papel filtro.
- Examinar ao microscópio.

8. LIBERAÇÃO DOS RESULTADOS

Com objetiva de 10x avaliar a qualidade do material clínico e esfregaço, verificando a presença de leucócitos e células epiteliais. Com a objetiva de imersão de 100x (aumento de 1000x), analisar várias áreas do esfregaço e relatar a ausência ou presença de microrganismos, quantificando e classificando conforme as observações abaixo:

- **Morfologia:** bastonete difteroides; bastonete fusiforme; cocos; coco lanceolado; Coco reniforme; cocobacilo; bacilo; espiroqueta.

Afinidade ao Cristal Violeta: gram negativo ou gram positivo.

Arranjo: cocos gram-positivos aos pares, cocos gram-positivos em cadeias, cocos gram-positivo agrupados em cachos

Além disso podemos encontrar **leveduras e/ou leveduras em filamentação**, que deverão ser relatadas do campo das observações.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.023 - Página 91/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/TUBERCULOSE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

Quanto à quantificação, seguir a seguinte orientação:

Ausentes-----0

Raros----- 01-05

Moderados-----06-15

Vários----- 16-30

Numerosos----->30

Resultado negativo: não foram encontrados microrganismos coráveis pelo método de Gram.

Resultado positivo: Ex: cocos gram positivos arranjados em forma de cachos

9. REFERÊNCIAS

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Msc. Ádria Clésia dos Santos Lopes Cargo: Biomédica Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabrcio Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.023 - Página 92/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/TUBERCULOSE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

POP 23: COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/TUBERCULOSE

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

Identificar com rapidez a maioria dos casos bacilíferos decorrentes de infecções por *Mycobacterium tuberculosis*.

Para todas as amostras clínicas extrapulmonares pode-se realizar a baciloscopia para pesquisa de BAAR (**exceto sangue e medula óssea**). Alguns cuidados devem ser tomados com o preparo do esfregaço, coloração e leitura das lâminas para garantir a qualidade do exame.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.023 - Página 93/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/TUBERCULOSE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

5. OBJETIVO

Padronizar a técnica de coloração de Ziehl Neelsen.

6. MATERIAL NECESSÁRIO:

- Papel toalha ou outro capaz de absorver respingos para forrar a bancada;
- Lâminas novas, com bordas foscas, sem riscos e desengorduradas;
- Palitos de madeira.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

PREPARO DO ESFREGAÇO PARA BACILOSCOPIA DO ESCARRO:

O esfregaço pode ser preparado por meio de distensão do escarro diretamente sobre a lâmina (exame direto), conforme descrito abaixo.

O procedimento deverá ser realizado na Cabine de Segurança Biológica para proteger o operador e o restante das pessoas que trabalham no setor. O bico de Bunsen deverá estar ligado para melhor proteção no procedimento.

- Organizar as amostras e as respectivas lâminas em frente de cada amostra;
 - Quebrar ao meio o palito e com as pontas farpadas retirar a porção purulenta do escarro. Em seguida, colocar a porção purulenta sobre a lâmina e distender (espalhar) até obter um esfregaço homogêneo, ocupando 2/3 da lâmina;
- Deixar a lâmina secar em temperatura ambiente dentro do fluxo, em superfície forrada com papel;
- Descartar o material usado no lixo contaminado;
- Guardar as amostras em geladeira até a liberação dos resultados (caso seja necessário repetir a baciloscopia);
- Fixar os esfregaços, passando três vezes pela chama do bico de Bunsen.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.023 - Página 94/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/TUBERCULOSE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

CUIDADOS:

- Esfregaços muito finos ou muito grossos dificultam a leitura e podem levar a resultados falso negativos;
- Não aquecer a lâmina durante a preparação do esfregaço, para evitar a formação de aerossóis;
- Mesmo após a fixação podem existir bacilos viáveis no esfregaço.

COLORAÇÃO:

A coloração utilizada para a realização da pesquisa de BAAR é a de Ziehl-Neelsen. Essa coloração é usada em bactérias que coram mal com a coloração de Gram, como os bacilos da Hanseníase e da Tuberculose.

Corantes utilizados na coloração: fucsina fenicada 1%, álcool-ácido (HCl) 3% e azul de metileno a 0,3%.

A coloração deverá ser realizada na pia do laboratório utilizando-se os bastões de vidro para apoio das lâminas. Para o aquecimento das preparações microscópicas deverá ser utilizado o pauzinho de churrasco com um tufo de algodão na extremidade.

PROCEDIMENTOS

- Cobrir todo esfregaço com a fucsina fenicada. Aquecer, sem deixar ferver, 3 vezes em um período de 5 min;
- Lavar com água (jato fraco);
- Cobrir a lâmina com álcool-ácido e deixar por no máximo 2 min;
- Lavar com água (jato fraco);
- Cobrir o esfregaço com azul de metileno (2 min);
- Lavar com água (jato fraco);

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.023 - Página 95/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/TUBERCULOSE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- Deixar a lâmina secar ao ar;
- Ler em microscópio óptico comum em objetiva de imersão de 100x.

8. LIBERAÇÃO DOS RESULTADOS

Leitura da baciloscopia de escarro deve obedecer à escala semi-quantitativa (abaixo),
Leitura de baciloscopia de outras amostras deve ser informada apenas como positiva ou negativa.

Leitura das lâminas

Escala semi-quantitativa para informar o número de BAAR observados em esfregaços de escarro corados pelo método de Ziehl-Neelsen:

- Não foram encontrados BAAR em 100 campos observados: **NEGATIVO**
- Presença de 1 a 9 BAAR em 100 campos observados (relatar o número): **1 a 9**

bacilos;

- Presença de menos de 1 BAAR por campo em 100 campos examinados: **+**
- Presença de 1 a 10 BAAR por campo em 50 campos examinados: **++**
- Presença de mais de 10 BAAR por campo em 20 campos examinados: **+++**

Utilizar um formulário quadriculado para anotar o número de bacilos encontrados em cada campo microscópico observado.

Positivo: bacilos corados em vermelho (BAAR), outras bactérias e células se coram em azul.

Negativo: ausência de BAAR em 100 campos observados.

9. REFERÊNCIAS

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo7: Detecção e Identificação de Micobactérias de Importância Médica.**— Brasília: Anvisa, v. 9; 2013. 47p.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.023 - Página 96/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/TUBERCULOSE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827pp.

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Msc. Ádria Clésia dos Santos Lopes Cargo: Biomédica Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.024 - Página 97/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/HANSENÍASE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

POP 24: COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/HANSENÍASE

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

Identificar com rapidez a maioria dos casos pauci ou multibacilares decorrentes de infecções por *Mycobacterium leprae*. Para melhor entendimento para a liberação dos resultados, abaixo está descrito como é realizado a coleta. O resultado deverá ser liberado conforme os sítios de coleta.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Padronizar a técnica de coloração de Ziehl Neelsen.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

- Lâmina de bisturi;
- Lâminas microscópicas novas, com bordas foscas, sem riscos e desengorduradas;
- EPI's.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.024 - Página 98/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/HANSENÍASE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

SÍTIOS DE COLETA

Em pacientes com lesões cutâneas visíveis ou áreas com alteração de sensibilidade, a coleta da linfa deverá ser feita em lóbulo auricular direito (LD), lóbulo auricular esquerdo (LE), cotovelo direito (CD) e lesão (L), conforme (Figura 1). Nas lesões planas, coletar no limite interno. Nos nódulos, tubérculos e placas eritematosas marginadas por microtubérculos, coletar no centro.

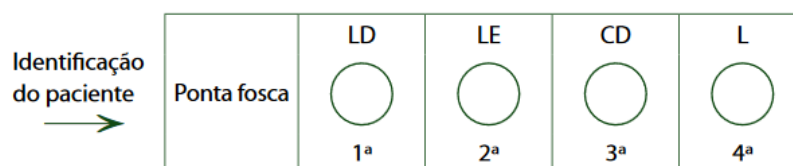


Figura 1 – Disposição dos esfregaços em lâmina de vidro.

Em pacientes que não apresentam lesões ativas visíveis, colher a linfa do lóbulo auricular direito (LD), lóbulo auricular esquerdo (LE), cotovelo direito (CD) e cotovelo esquerdo (CE), conforme (Figura 2).

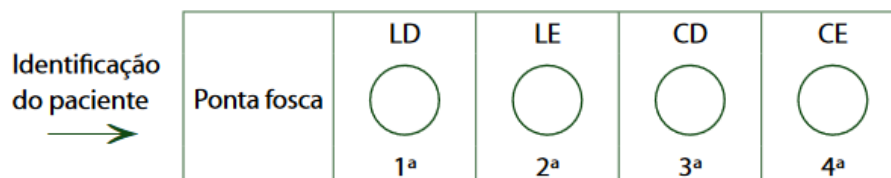


Figura 2 – Disposição dos esfregaços em lâmina de vidro.

MÉTODO:

FIXAÇÃO:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.024 - Página 99/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/HANSENÍASE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

As lâminas contendo a linfa devem permanecer em superfície plana e à temperatura ambiente, durante cinco a dez minutos até estarem completamente secos. Após essa etapa os esfregaços devem ser fixados passando-se as lâminas duas a três vezes, rapidamente, na chama do bico de Bunsen, com os esfregaços voltados para cima.

COLORAÇÃO

A coloração utilizada para a realização da pesquisa de BAAR é a de Ziehl-Neelsen. Essa coloração é usada em bactérias que coram mal com a coloração de Gram, como os bacilos da Hanseníase e da Tuberculose.

Corantes utilizados na coloração: fucsina fenicada 1%, álcool-ácido (HCl) 3% e azul de metileno a 0,3%.

A coloração deverá ser realizada na pia do laboratório utilizando-se os bastões de vidro para apoio das lâminas. Para o aquecimento das preparações microscópicas deverá ser utilizado o pauzinho de churrasco com um tufo de algodão na extremidade.

PROCEDIMENTOS

- Cobrir todo esfregaço com a fucsina fenicada. Aquecer, sem deixar ferver, 3 vezes em um período de 5 min;
- Lavar com água (jato fraco);
- Cobrir a lâmina com álcool-ácido e deixar por no máximo 2 min;
- Lavar com água (jato fraco);
- Cobrir o esfregaço com azul de metileno (2 min);
- Lavar com água (jato fraco);
- Deixar a lâmina secar ao ar;
- Ler em microscópio óptico comum em objetiva de imersão de 100x.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.024 - Página 100/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/HANSENÍASE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- Começar a examinar o esfregaço na porção superior conforme figura 3 ou inferior conforme figura 4, sistematicamente, em zig-zag em 100 campos representativos, conforme esquema a seguir:



8. LIBERAÇÃO DOS RESULTADOS

Caso não seja encontrado nenhum bacilo em 100 campos, liberar o resultado da seguinte maneira:

Resultado negativo: ausência de bacilos em 100 campos examinados por sítio.

Resultado positivo: No caso de presença de bacilos, liberar o resultado utilizando o índice baciloscópico (IB) por sítios de coleta (ex: IB do lóbulo auricular esquerdo) e também pela média do índice baciloscópico (IB do paciente).

Índice Baciloscópico (IB)

O Índice Baciloscópico (IB), proposto por Ridley em 1962, baseia-se em uma escala logarítmica com variação entre 0 a 6. É o método de avaliação quantitativo mais correto e utilizado na leitura da baciloscopia em hanseníase.

Escala Logarítmica de Ridley

(0) – Ausência de bacilos em 100 campos examinados.

(1+) – Presença de 1 a 10 bacilos, em 100 campos examinados.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.024 - Página 101/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/HANSENÍASE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- (2+) – Presença de 1 a 10 bacilos, em cada 10 campos examinados.
 (3+) – Presença de 1 a 10 bacilos, em média, em cada campo examinado.
 (4+) – Presença de 10 a 100 bacilos, em média, em cada campo examinado.
 (5+) – Presença de 100 a 1.000 bacilos, em média, em cada campo examinado.
 (6+) – Presença de mais de 1.000 bacilos, em média, em cada campo examinado.
 Para os índices de 0 a 3+ devem ser examinados 100 campos microscópicos.
 De 4+ a 6+, a leitura poderá ser realizada em 25 campos.

Utilizar um formulário quadriculado para anotar o número de bacilos encontrados em cada campo microscópico observado.

O IB do paciente é calculado pela média aritmética dos IBs de cada sítio analisado, conforme exemplo a seguir:

Caso não seja encontrado nenhum bacilo em 100 campos, liberar o resultado da seguinte maneira: Ausência de bacilos em 100 campos examinados por sítio (IB=0).

9. REFERÊNCIAS

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Guia de procedimentos técnicos: baciloscopia em hanseníase**. Brasília : Editora do Ministério da Saúde, 2010.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010. 530p.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827p.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.024 - Página 102/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE COLORAÇÃO DE ZIEHL NEELSEN: BACILOSCOPIA PARA PESQUISA DE BAAR/HANSENÍASE	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Msc. Ádria Clésia dos Santos Lopes Cargo: Biomédica Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabrizio Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.025 - Página 103/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE CIM DE POLIMIXINA B	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

4. TESTES CONFIRMATÓRIOS

POP 25: CIM PARA POLIMIXINA B

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

Principal metodologia utilizada para se verificar a CIM de polimixina B.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Padronizar o método de microdiluição em painéis de polimixina B para a determinação de sua concentração inibitória mínima (CIM) para bacilos Gram negativos multirresistentes.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

- Painéis de polimixina B;
- Solução fisiológica (SF) estéril: 1 tubo com 2 mL, 1 tubo com 4.950 uL e 1 tubo com 4.500uL;
- Pipeta automática de volume variável P200 e P1000 (ou sorológica estéril de 1mL);

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.025 - Página 104/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE CIM DE POLIMIXINA B	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- Ponteiras estéreis: ponteira amarela e azul;
- EPI (equipamento de proteção individual);
- Swab;
- Estante para os tubos;
- Nefelômetro;
- Agitador Vortex.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

Preparo do inóculo:

- Disponibilizar todos os materiais necessários na bancada;
- Marcar os tubos com as respectivas numerações (1, 2 e 3). O tubo 1 deve conter 2 mL de solução fisiológica, o tubo 2 deve conter 4.950uL e o tubo 3 deve conter 4.500uL.
 - Com a placa contendo a cepa teste isolada em mãos, a qual foi previamente incubada de 18 a 24 horas, encostar o swab na colônia mais isolada;
 - Abrir o tubo 1 com cuidado e inserir o swab dentro do tubo e agitar dentro do líquido até que o mesmo turve;
 - Tampar o tubo e colocar o swab na posição vertical em uma das estantes para que possa ser utilizado novamente, caso seja necessário;
 - Levar o tubo ao agitador vortex por alguns segundos, para promover a suspensão das partículas (bactérias) no meio líquido;
 - Esperar por alguns segundos até que as bolhas que se formaram com a agitação sessem;
 - Limpar o entorno do tubo para que as digitais não interfiram na leitura do nefelômetro;
 - Levar o tubo ao nefelômetro e fazer a leitura;
 - Fazer os ajustes (diluir ou inserir mais colônias) necessários até que o inóculo esteja na escala 0,5 MacFarland (10^8 UFC/mL);
 - Retirar 50 µL da solução do tubo 1 com auxílio da pipeta P200 e adicioná-lo ao tubo 2. Equivale a uma diluição de 1:100, e o inóculo será de (10^6 UFC/mL);

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.025 - Página 105/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE CIM DE POLIMIXINA B	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- Tampar o tubo 2 e leva-lo ao agitador vortex e agitar por alguns segundos;
- Com o auxílio da pipeta, retirar 500 µl ou 0,5 mL do tubo 2 e adicionar ao tubo 3. Equivale a uma diluição de 1:10, e o inoculo será de (10⁵ UFC/mL);
- Agitar o tubo três com o auxílio do agitador vortex;
- Abrir a embalagem do painel tentando não danificá-la, pois será reutilizada;
- Colocar o painel sobre a bancada e identificar o lado que será utilizado com o número de identificação existente na placa de Petri;
- Retirar 100 µL do tubo 3 e inocular os 100 µL/poço no controle de crescimento (CC) e nos poços de 0,125 a 64 mcg/mL, com auxílio de uma pipeta automática P200. Observar o sentido de inoculação que deve ser primeiramente no CC e depois do poço de menor concentração para o de maior concentração;
- Importante agitar o tubo 3 toda vez que for inocular os 100 µL em cada poço;
- Após a inoculação, colocar novamente o painel na embalagem original com cuidado para não virar, incubar por 24 horas em estufa aeróbia a 35°C;
- Após as 24 horas retirar o painel da embalagem e pingar uma gota de solução reveladora nos poços onde foram feitas as inoculações (do poço CC a concentração 64 mcg/mL). A solução reveladora facilita a visualização do crescimento microbiano através da mudança de coloração para vermelho. Para enterobactérias após colocar a solução reveladora espera-se 20 minutos para realizar a leitura. Para *Acinetobacter baumannii*, espera-se 1h.

8. RESULTADO

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) será a primeira concentração onde não houver crescimento bacteriano, ou seja, não estará vermelho. O resultado deve ser liberado em mcg/mL. São consideradas com susceptibilidade diminuída bactérias com CIM > 2 mcg/mL. A cavidade onde houver crescimento microbiano terá coloração avermelhada.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.025 - Página 106/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE CIM DE POLIMIXINA B	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

9. REFERÊNCIAS

BARTOLLETI, F. et al. **Polymyxin B Resistance in Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae***, São Paulo, Brasil Emerging Infectious Diseases Vol. 22, N 10, October 2016.

KONEMAN, E. et al. **Diagnóstico microbiológico**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827pp.

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Msc. Ádria Clésia dos Santos Lopes Cargo: Biomédica Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.026 - Página 107/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE CIM DE VANCOMICINA	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

POP 26: CIM PARA VANCOMICINA

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

Principal metodologia utilizada para se verificar a CIM de vancomicina.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Padronizar o método de microdiluição em painéis de vancomicina para a determinação de sua concentração inibitória mínima (CIM) para bactérias Gram positivas multirresistentes.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

- Painéis de vancomicina;
- Solução fisiológica (SF) estéril: 1 tubo com 2 mL, 1 tubo com 4.950 uL e 1 tubo com 4.500uL;
- Pipeta automática de volume variável P200 e P1000 (ou sorológica estéril de 1mL);
- Ponteiras estéreis: ponteira amarela e azul;
- EPI (equipamento de proteção individual);
- Swab;

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.026 - Página 108/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE CIM DE VANCOMICINA	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- Estante para os tubos;
- Nefelômetro;
- Agitador Vortex.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

Preparo do inóculo

- Disponibilizar todos os materiais necessários na bancada;
- Marcar os tubos com as respectivas numerações (1, 2 e 3). O tubo 1 deve conter 2 mL de solução fisiológica, o tubo 2 deve conter 4.950uL e o tubo 3 deve conter 4.500uL;
 - Com a placa contendo a cepa teste isolada em mãos, a qual foi previamente incubada de 18 a 24 horas, encostar o swab na colônia mais isolada;
 - Abrir o tubo 1 com cuidado e inserir o swab dentro do tubo e agitá-lo dentro do líquido até que o mesmo turve;
 - Tampar o tubo e colocar o swab na posição vertical em uma das estantes para que possa ser utilizado novamente, caso seja necessário;
 - Levar o tubo ao agitador vortex por alguns segundos, para promover a suspensão das partículas (bactérias) no meio líquido;
 - Esperar por alguns segundos até que as bolhas que se formaram com a agitação sessem;
 - Limpar o entorno do tubo para que as digitais não interfiram na leitura do nefelômetro;
 - Levar o tubo ao nefelômetro e fazer a leitura;
 - Fazer os ajustes (diluir ou inserir mais colônias) necessários até que o inóculo esteja na escala 0,5 MacFarland (10^8 UFC/mL);
 - Retirar 50 µL da solução do tubo 1 com auxílio da pipeta P200 e adicioná-lo ao tubo 2. Equivale a uma diluição de 1:100, e o inóculo será de (10^6 UFC/mL);
 - Tampar o tubo 2 e leva-lo ao agitador vortex e agitar por alguns segundos;
 - Com o auxílio da pipeta, retirar 500 µl ou 0,5 mL do tubo 2 e adicionar ao tubo 3. Equivale a uma diluição de 1:10, e o inóculo será de (10^5 UFC/mL);

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.026 - Página 109/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE CIM DE VANCOMICINA	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- Agitar o tubo três com o auxílio do agitador vortex;
- Abrir a embalagem do painel tentando não danificá-la, pois será reutilizada;
- Colocar o painel sobre a bancada e identificar o lado que será utilizado com o número de identificação existente na placa de Petri;
 - Retirar 100 µL do tubo 3 e inocular os 100 µL/poço no controle de crescimento (CC) e nos poços de 0,125 a 64 mcg/mL, com auxílio de uma pipeta automática P200. Observar o sentido de inoculação que deve ser primeiramente no CC e depois do poço de menor concentração para o de maior concentração;
 - Importante agitar o tubo 3 toda vez que for inocular os 100 µL em cada poço;
 - Após a inoculação, colocar novamente o painel na embalagem original com cuidado para não virar, incubar por 24 horas em estufa aeróbia a 35°C;

8. RESULTADO

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) será a primeira concentração onde não houver crescimento bacteriano. O resultado deve ser liberado em mcg/mL e a interpretação seguir o critério no documento vigente do CLSI.

9. REFERÊNCIAS

KONEMAN, E. et al. **Diagnóstico microbiológico**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827p p.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.026 - Página 110/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE CIM DE VANCOMICINA	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Msc. Ádria Clésia dos Santos Lopes Cargo: Biomédica Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.027 - Página 111/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE CIM: MÉTODO DE INIBIÇÃO DOS CARBAPENÊMICOS: MCIM E ECIM	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

POP 27: CIM: MÉTODO DE INIBIÇÃO DOS CARBAPENÊMICOS: MCIM E ECIM

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

Metodologia utilizada para detecção de carbapenemase.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Orientar os profissionais de nível superior (biomédico, bioquímico e biólogos) sobre o modo de se realizar o método de inibição dos carbapenêmicos através da produção da enzima carbapenemase. Através destes dois testes será possível dizer se a carbapenemase produzida é do tipo serina ou metalo.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Placa contendo ágar Mueller Hinton, cepa padrão de *E. coli* ATCC25922, discos de meropenem e EDTA a 0,5mol.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.027 - Página 112/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE CIM: MÉTODO DE INIBIÇÃO DOS CARBAPENÊMICOS: MCIM E ECIM	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

TESTE mCIM:

- Em um tubo estéril é preparado uma suspensão na concentração de 3,0 da escala McFarland, à qual é adicionado um disco de meropenem;

- Após adicionar o disco no tubo, o mesmo, deve ser incubado (suspensão + disco de antibiótico) por 2h em uma estufa bacteriológica a 37°C;

- Após o período de incubação, deve-se retirar o disco de meropenem e colocá-lo em uma placa de Mueller Hinton previamente inoculada com uma cepa de *E. coli* ATCC25922.

- A leitura será realizada da seguinte maneira: menor que 16mm: bactéria produtora de carbapenemase. Entre 16 e 18mm com colônias dentro do halo: teste indeterminado. Halo maior que 18mm: teste negativo para produção de carbapenemase.

Através do teste mCIM descobre-se que a bactéria é produtora de carbapenemase. No entanto, precisa-se saber se ela é do tipo serina ou metalo. Para isso, deve ser realizado simultaneamente o teste mCIM e o eCIM.

TESTE eCIM:

- Adicionar 20uL de 0,5mol de EDTA (mandar fazer em uma farmácia de manipulação) em um tubo contendo 2mL de TSB e adicionar a bactéria. Neste tudo irá conter: edta+caldo TSB+bactéria.

- Incubar o tubo por 2h a 37°C e após o período de incubação montar os testes mCIM e eCIM simultaneamente em uma mesma placa.

- Incubar a placa por 24h a 37°C e após esse período, medir os halos.

- Se o halo do meropenem, que foi colocado EDTA, tiver 5mm ou mais de diferença do outro halo é pq a carbapenemase é do tipo metalo. Se for 4mm ou menos o teste eCIM é negativo e a carbapenemase é tipo serina (podendo ser uma KPC por exemplo).

8. REFERÊNCIAS

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.027 - Página 113/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE CIM: MÉTODO DE INIBIÇÃO DOS CARBAPENÊMICOS: MCIM E ECIM	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

Zwaluw KV, Haan A, Pluister GN, Bootsma HJ, Neeling AJ, Schouls LM. The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low cost alternative for the Carba NPtest to assess phenotypic carbapenemase activity in Gram negative rods. PLoS One 2015; 10:1371.

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Júlio César de Almeida Neto Cargo: Biomédico Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.028 - Página 114/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE PRODUÇÃO DE BETALACTAMASE DO TIPO AMPC INDIZÍVEL OU PLASMIDIAL	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

POP 28: PRODUÇÃO DE BETALACTAMASE DO TIPO AMPC INDIZÍVEL OU PLASMIDIAL

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

Metodologia utilizada para detecção de AmpC indizível ou plasmidial.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Orientar os profissionais de nível superior (biomédico, bioquímico e biólogos) sobre o modo de detecção de betalactamase do tipo *AmpC* indizível ou plasmidial. O *AmpC* é um gene que codifica para produção de beta-lactamase do tipo *AmpC*. Se o gene for plasmidial, a bactéria terá uma resistência natural e se for indizível a enzima será produzida somente na presença de um antibiótico beta-lactâmico.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Placa contendo ágar Mueller Hinton, discos de meropenem, ceftriaxona e ceftazidima.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.028 - Página 115/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE PRODUÇÃO DE BETALACTAMASE DO TIPO AMPC INDIZÍVEL OU PLASMIDIAL	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO DO TESTE:

Como fazer para expressar o gene *AmpC* induzível: Procura-se as betalactamase do tipo AmpC induzível no seguinte grupo: no grupo CESPMP (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Providência*, *Morganella*, *Proteus* e *Pseudomonas*).

- No antibiograma coloca-se o imipenem (forte indutor de beta-lactamases) ao lado (20mm) das cefalosporinas de 3 geração (ceftriaxona e ceftazidima).

- Na mesma placa, deve ser colocado a cefoxitina sem distância determinada dos outros discos. A cefoxitina é um indicador importantíssimo, se ela for resistente e os halos das cefalosporinas de 3 geração estiverem achatados, a bactéria será produtora de beta-lactamase do tipo AmpC induzível.

Como fazer para expressar a beta-lactamase do tipo *AmpC* plasmidial:

- Quando houver uma *E. coli* com resistência a cefoxitina e sensibilidade a cefepime, nos leva a desconfiar que há a produção de AmpC plasmidial, mas existe um teste para confirmar.

- Para isso prepara-se uma solução de ácido fenilborônico 20mg/mL (dá para comprar na farmácia de manipulação) e colocar 10uL desta solução em um disco com cefoxitina. Na placa, será colocado um disco só com cefoxitina e outro com cefoxitina + o ácido fenilborônico. Se houver um aumento maior do halo em 5mm no disco com cefoxitina + o ácido fenilborônico, quando comparado com o disco só de cefoxitina, então a bactéria é produtora de beta-lactamase do tipo AmpC plasmidial.

8. REFERÊNCIAS

BARCELOS, L, F.; AQUINO, J. L. **Tratado De Análises Clínicas**. 1 ed. – Rio de Janeiro: Atheneu, 2018.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.028 - Página 116/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE PRODUÇÃO DE BETALACTAMASE DO TIPO AMPC INDIZÍVEL OU PLASMIDIAL	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Júlio César de Almeida Neto Cargo: Biomédico Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.030 - Página 117/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE TESTE DE INDUÇÃO DO FENÓTIPO MLS_B OU TESTE D	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

POP 29: PRODUÇÃO DE ESBL

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

Metodologia utilizada para detecção de ESBL.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Orientar os profissionais de nível superior (biomédico, bioquímico e biólogos) sobre o modo de detecção ESBL.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Placa contendo ágar Mueller Hinton, discos de amoxicilina + ácido clavulânico, ceftazidima, ceftriaxona, aztreonam e cefepime.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO DO TESTE

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.030 - Página 118/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE TESTE DE INDUÇÃO DO FENÓTIPO MLS_B OU TESTE D	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- Teste fenotípico por disco aproximação: Em uma placa contendo ágar Mueller Hinton colocar amoxicilina + ácido clavulânico no meio da placa e ao redor (20mm) colocar os seguintes antibióticos: ceftazidima, ceftriaxona, aztreonam e cefepime. Ainda colocar cefoxitina sem distância determinada dos outros discos. Se a cefoxitina for sensível já é um indicador de ESBL. O imipenem também deverá ser colocado a 20mm da ceftriaxona para ser observado a produção de AmpC simultaneamente.

8. REFERÊNCIAS

BARCELOS, L, F.; AQUINO, J. L. **Tratado De Analises Clinicas**. 1 ed. – Rio de janeiro: Atheneu, 2018.

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Júlio César de Almeida Neto Cargo: Biomédico Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.030 - Página 119/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE TESTE DE INDUÇÃO DO FENÓTIPO MLS_B OU TESTE D	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

POP 30: TESTE DE INDUÇÃO DO FENÓTIPO MLSB OU TESTE D

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

Metodologia utilizada para detecção da produção do fenótipo MLSb

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Padronizar a realização do teste fenotípico de detecção da possível resistência bacteriana a clindamicina adjacente ao disco de eritromicina.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

As amostras a serem testadas devem ser isoladas do meio de cultura Ágar Sangue. É necessário soro fisiológico estéril para suspensão bacteriana e swabs. Uma placa de Ágar Mueller Hinton para cada amostra testada, e discos de eritromicina (30µg) e clindamicina (2µg). Se for realizado este teste para *Streptococcus*, o mesmo deve ser realizado em ágar sangue.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.030 - Página 120/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE TESTE DE INDUÇÃO DO FENÓTIPO MLS_B OU TESTE D	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

- **PREPARAÇÃO DO TESTE:** Separar o material necessário. É necessário que o meio Mueller Hinton e os antibióticos utilizados atinjam a temperatura ambiente.

- **PROCEDIMENTO:**

- 1- Utilizando um swab, escolha uma colônia pura e coloque-a no tubo contendo soro fisiológico;
- 2- A suspensão bacteriana deve estar na concentração McFarland (0,50-0,55). Afira a concentração no nefelômetro. Confira a calibração do aparelho com a suspensão padrão;
- 3- A suspensão deve ser semeada, em forma de tapete na placa contendo Agar Muller-Hinton;
- 4- Marque aonde os discos serão colocados com uma régua, a eritromicina deve estar a 20mm de distância do disco da clindamicina;
- 5- Com uma pinça, pegue os discos dos antibióticos e coloque na placa, pressionando com cuidado para que o disco possa aderir à superfície. Lembre-se que antes de usar a pinça, ela deve ser flambada, e antes de pegar o disco dos antibióticos espere que a pinça esfrie, pois assim evita a inativação do disco pelo calor;
- 6- Incube a placa à 35°C por 18 a 24 horas.

8. RESULTADOS

Os organismos que apresentarem achatamento do halo de clindamicina adjacente ao disco de eritromicina (chamado de halo “D”) indicam positividade, ou seja, resistência induzível à clindamicina (observe a figura). Para esses isolados, deve-se reportar como resistentes à clindamicina, e ainda incluir o seguinte comentário: “Presume-se que este isolado apresenta resistência induzível à clindamicina, podendo haver falha terapêutica caso este antimicrobiano seja empregado”.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.030 - Página 121/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE TESTE DE INDUÇÃO DO FENÓTIPO MLS_B OU TESTE D	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

9. REFERÊNCIAS

1. Cocos Gram-positivos: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp. e *Streptococcus pneumoniae* e os principais mecanismos de resistência. In: Rossi F. & Andreazzi D.B. Interpretando o antibiograma. São Paulo, Editora Atheneu, páginas 27-63, 2005.
2. LIVEMORE DM, WINSTANLEY TG, SHANNON KP. Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. J Antimicrob Chemother 2001;48(supl.1):87-102.
3. Medidas de prevenção e controle da resistência microbiana e programa de uso racional de antimicrobianos em serviços de saúde. OPAS, ANVISA, Rede RM, CGLAB/SVS/MS e Disciplina de Infectologia da UNIFESP, 2007.
4. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. 7th ed. CLSI approved standard M7–A7. Pennsylvania; 2006.
5. NORDMANN P, Poirel L. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. Clin Microbiol Infect Dis 2002;8:321-31.
6. OPLUSTIL CP, Zoccoli CM, Tobouti NR, Sinto IS. Procedimentos básicos em microbiologia clínica. 2a ed. São Paulo: Sarvier Editora; 2004.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.030 - Página 122/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE TESTE DE INDUÇÃO DO FENÓTIPO MLS_B OU TESTE D	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Júlio César de Almeida Neto Cargo: Biomédico Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.031 - Página 123/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE TESTE RÁPIDO PARA A DETECÇÃO DE CARBAPENEMASES OXA-48, KPC E NDM	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

POP 31: TESTE RÁPIDO PARA A DETECÇÃO DE CARBAPENEMASE OXA-48, KKPC E NDM

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

Metodologia utilizada para detecção de qual o tipo de carbapenemase produzida pela bactéria.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Padronizar a realização do teste de diagnóstico rápido para a detecção de carbapenemases OXA-48, KPC e NDM a partir de colônia bacteriana.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

As amostras a serem testadas devem ser de colônias puras, cultivadas em até 48 hrs (máximo), em condições microbiológicas padrão. É importante se certificar que as amostras não foram tratadas previamente com formaldeído ou derivados.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.031 - Página 124/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE TESTE RÁPIDO PARA A DETECÇÃO DE CARBAPENEMASES OXA-48, KPC E NDM	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO:

- **PREPARAÇÃO DO TESTE:** Deixar o kit, ainda lacrado, junto com as amostras atingirem a temperatura ambiente. A embalagem deve ser aberta e o kit retirado, importante lembrar que uma vez aberto, o dispositivo deve ser utilizado imediatamente. Deve ser indicado o nome ou número da amostra no próprio dispositivo.

- **PROCEDIMENTO PARA PREPARAÇÃO DA AMOSTRA:** Só colônias bacterianas devem ser utilizadas.

- 1- Preparar um tubo semirrígido;

- 2- Acrescentar 10 gotas de tampão LY-A no tubo;

- 3- Proceder à colheita das bactérias, tocando a colônia com uma alça bacteriológica descartável, e mergulhar a alça até o fundo do tubo contendo o tampão;

- 4- Homogeneizar;

- 5- Introduzir o conta-gotas no tubo, encaixando bem;

- 6- Inverter o tubo do teste e adicionar, devagar, três gotas de amostra diluída no poço de amostra do cassete;

- 7- Deixe reagir por, no máximo, 15 minutos e leia o resultado.

8. RESULTADOS

- **Teste Negativo:** Apenas uma banda roxo-avermelhada na linha controle (C) fica visível.

- **Teste Positivo:** na banda controle (C) deve aparecer uma linha roxo-avermelhada, uma banda da mesma cor e visível aparece na posição da linha de Teste (OXA-48, KPC ou NDM). A intensidade da linha teste depende da quantidade antígenos, bem como o tipo de variante presente na amostra. Qualquer linha teste roxo-avermelhada (OXA-48, KPC ou NDM), mesmo de pouca intensidade, deve ser considerada positiva.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.031 - Página 125/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE TESTE RÁPIDO PARA A DETECÇÃO DE CARBAPENEMASES OXA-48, KPC E NDM	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

Se apenas uma linha teste for positiva, por exemplo uma linha em O, significa que há OXA-48 ou uma variante semelhante presente na amostra, o mesmo raciocínio segue para as demais. Pode ocorrer combinações de linhas de teste positivo, o que significa a presença de várias carbapenemases na amostra.

- Teste inválido: Ausência da linha controle indica falha no procedimento do teste. Um novo kit deve ser usado para a repetição do teste.

9. REFERÊNCIAS

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, São Paulo, 3ª ed, SARVIER, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2003. 827p p.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.031 - Página 126/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE TESTE RÁPIDO PARA A DETECÇÃO DE CARBAPENEMASES OXA-48, KPC E NDM	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Júlio César de Almeida Neto Cargo: Biomédico Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	N° de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.032 - Página 127/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE IDENTIFICAÇÃO AUTOMATIZADA PHOENIX™ 100	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

5. EQUIPAMENTOS

POP 32: IDENTIFICAÇÃO AUTOMATIZADA PHOENIX™ 100

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

Metodologia utilizada para identificação de bactérias e realização de antibiograma.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

Orientar e padronizar os profissionais do laboratório sobre o modo como preparar as amostras para identificação e antibiograma dos microrganismos no equipamento Phoenix™ 100 – BD.

6. MATERIAL NECESSÁRIO

Suspensão bacteriana pura, swab estéril, nefelômetro e kit completo de identificação e antibiograma do Phoenix™ 100 – BD.

a. Kit Phoenix™ 100 – BD contem:

- ID Broth – para identificação do microrganismo.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.032 - Página 128/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE IDENTIFICAÇÃO AUTOMATIZADA PHOENIX™ 100	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- AST Broth – para antibiograma.
- AST indicator solution – indicador para antibiograma.
- Painéis ID – Para Gram negativos (NID), positivos (PID) e leveduras (YEAST ID).
- Painéis AST – Gram negativos (NMIC), Positivos (PMIC).
- Suporte inclinado para painéis.
- Suporte horizontal para painéis.

7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

- Com o suporte inclinado na bancada, retirar os painéis de ID e AST de acordo com o coloração de gram do microrganismo, e colocar na parte inclinada do suporte nessa ordem.
 - Na parte inferior do suporte inclinado colocar um frasco de ID Broth e um de AST Broth.
 - Após deixar o AST indicator solution em temperatura ambiente, colocar uma gota no tubo AST Broth e homogeneizar.
 - Identificar as placas a serem trabalhadas com a etiqueta gerada no AGHU.
 - Promover a identificação dos tubos, painéis e placas de acordo com o dia e ordem. (ex: 2.1: dia 2, microrganismo 1).
- Com o auxílio de um swab estéril, pegar uma quantidade pequena do microrganismo puro (geralmente duas colônias), e colocá-lo no tubo ID Broth fazendo movimentos vigorosos para que se dissolvam totalmente. Formando turvação. Se necessário utilizar o vórtex para homogeneização da amostra.
 - Aguardar um minuto.
 - Fazer a leitura no nefelômetro.
 - GP: 0,50 a 0,55 da escala de McFarland
 - GN e leveduras: 0,50 a 0,60 da escala de McFarland
 - Para ajustar a turvação, pode-se utilizar solução fisiológica 0,9%.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.032 - Página 129/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE IDENTIFICAÇÃO AUTOMATIZADA PHOENIX™ 100	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

- Turvação alta: desprezar um pouco e completar com solução fisiológica 0,9%, sem encostar o frasco do soro na bora do tubo.
- Turvação baixa: com o swab colocar mais uma quantidade do microrganismo.
- Turvação atingida, deve-se transferir 25ul da suspensão do tubo ID Broth para o AST Broth. Homogeneizando este último.
 - Caso não se atinja a turvação estipulada para Gram positivo e Gram negativo, deverá ser realizada a escala reduzida, na qual, poderá ser utilizada uma concentração de 0,20 a 0,30 da escala de McFarland. Turvação atingida, deve-se transferir 50ul da suspensão do tubo ID Broth para o AST Broth, homogeneizando este último. Nos painéis de ID e AST deverá ser pintado, com o pincel azul, a posição A17 que encontra-se atrás do painel.
 - Verter o tubo ID Broth de maneira contínua (evitando formação de bolhas) no orifício superior esquerdo do painel ID (PID ou NID).
 - Verter o tubo AST Broth de maneira contínua (evitando formação de bolhas) no orifício superior direito do painel AST (PMIC ou NMIC).
 - Após a completa absorção dos líquidos pelo painel, tampar os orifícios superiores das placas trabalhadas.
 - Coloca-las na posição vertical no suporte horizontal para poder ingressá-las no Phoenix™ 100.
 - Abrir o aparelho Phoenix e colocar os painéis de uma forma segura, sempre revisando se estão bem encaixados.
 - No momento de colocar os painéis no equipamento, primeiro deve-se ler o código de barra do painel e logo após o da placa que contém o micro-organismo. Esse procedimento deve ser realizado, tanto para o painel de identificação como o do antibiograma.
 - Aguardar a identificação (+ ou – 8h) e a realização do antibiograma (24h).

8. REFERÊNCIAS

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		
Tipo de Documento:	PROTOCOLO CLÍNICO SETORIAL	PCS.ULAB.032 - Página 130/137
Título do Documento:	PROTOCOLO DE IDENTIFICAÇÃO AUTOMATIZADA PHOENIX™ 100	Emissão: 27/05/2019
		Revisão: 0

Laboratório HU-UNIVASF – gestão de processo

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Júlio César de Almeida Neto Cargo: Biomédico Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino:

POP 33: UTILIZAÇÃO DA CABINE DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

1. HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO

2. DEFINIÇÃO

Metodologia utilizada para detecção de qual o tipo de carbapenemase produzida pela bactéria.

3. ABRANGÊNCIA

Unidade de Laboratório de Análises Clínicas -ULACP.

4. PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS

Técnicos de laboratório, Biólogos, Biomédicos e Bioquímicos.

5. OBJETIVO

É utilizada para verter meio de cultura em placas de Petri, manipular amostras biológicas (cultura em geral) que necessitem ser mantidas em condição estéril e/ou que possam ter alto poder infectante.

A cabine de segurança biológica é um equipamento construído e projetado para oferecer **proteção ao produto manipulado, ao operador e ao ambiente** onde estão inseridas e o fluxo de ar é sempre vertical.

6. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

- Limpar a cabine de segurança biológica antes do uso. Ligar a ventilação e a iluminação. - Aguardar no mínimo cinco minutos para liberar o ar estagnado dos filtros e aberturas HEPA;
- Para limpeza de rotina, use EXCLUSIVAMENTE álcool 70%.
- Abrir a tampa e passar álcool 70% sobre as superfícies internas, incluindo as superfícies de trabalho, paredes e quaisquer objetos que estejam do lado de dentro. Também limpe todas as superfícies externas que possam estar em contato com as mãos e jalecos (vidro da cabine e laterais);
- Ligar o sistema de luz UV, por no mínimo 15 minutos, para matar quaisquer células que possam não ter morrido durante a desinfecção. Assim que ligada a UV, o setor de microbiologia deverá ser evacuado;

- Após os 15 minutos com a UV ligada, a cabine de segurança biológica estará pronta para ser utilizada.
- A chama do bico de Bunsen só deverá ser acesa depois da limpeza e SEMPRE com a ventilação ligada, pois caso a ventilação não estiver ligada, o fogo poderá derreter o filtro da cabine.
- Limpar a capela após o uso da mesma forma que foi limpa antes de utilizá-la. Evite deixar itens do lado de dentro, quando possível.

7. REFERÊNCIAS

SALVATORI, R. U.; WOLF, G. A. K. DRESCH, F.; STROHSCHOEN, A. A. G. **Laboratório de Microbiologia: normas gerais, instruções de trabalho e procedimentos operacionais padrões.** Lajeado: Ed. da Univates, 2013. 72 p.

Elaboração:	Revisão:	Data:
Nome: Júlio César de Almeida Neto Cargo: Biomédico Data: 27/05/2019 Ass.:	Nome: Carine Rosa Naue Cargo: Bióloga Data: 27/05/2019 Ass.:	Data: 27/05/2019

Aprovação:		
Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica	Assinatura eletrônica
Fabício Olinda de Souza Mesquita Chefe do Setor de Apoio Diagnóstico e Terapêutico	Luiz Otávio Nogueira da Silva Gerente de Atenção à Saúde	Cristina Lumi Fukagawa Chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
Data:		

Status: ATIVO	Nº de cópias:
Data de Implementação:	Destino: