

# ***MANUAL DE MICROBIOLOGIA***

## ***1 Recomendações para coletas em Microbiologia***

### **1.1 - Biossegurança**

- Toda amostra biológica deve ser considerada potencialmente contaminada.
- Manipular amostras biológicas com luvas, máscaras e quando necessários óculos ou viseiras.
- Manipular amostras com riscos de respingos ou formação de aerossóis dentro do fluxo laminar.
- Não pipetar nenhuma solução ou amostra com a boca.
- Material contaminado deve ser descontaminado antes do descarte.
- Não reencapar agulhas.
- Descartar materiais perfurocortantes em recipientes apropriados.
- Sinalizar áreas contaminadas. Limpar e desinfetar as bancadas de trabalho antes e após a jornada de trabalho.
- Manter as áreas de trabalho organizadas.
- Lavar as mãos e/ou pele imediatamente após contato com amostra biológica, após remover as luvas e ao completar qualquer atividade.
- Não tocar com as luvas em áreas limpas.

## **1.2 - Recomendações Gerais**

A padronização da coleta, conservação e transporte das amostras clínicas, constituem etapas de suma importância para a definição do agente infeccioso e o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos.

A otimização das condições da coleta das amostras para exame microbiológico visa a manutenção da viabilidade dos micro-organismos mais sensíveis e a não contaminação da amostra a ser analisada ou bactérias da microbiota do doente ou do meio ambiente (originando falsos positivos).

### **a) Considerações gerais de coleta**

- Colher antes da antibioticoterapia sempre que possível.
- Quando a terapia antimicrobiana já tiver sido iniciada, coletar sangue ou urina imediatamente antes da próxima dose do antimicrobiano.
- Instruir claramente o paciente sobre o procedimento.
- Observar a antisepsia na coleta de todos os materiais clínicos.
- Colher do local onde o micro-organismo suspeito tenha maior probabilidade de ser isolado, priorizando tecidos vitalizados, e nunca tecidos necróticos ou materiais purulentos acumulados na lesão.
- Considerar o estágio da doença na escolha do material. Por exemplo: patógenos entéricos causadores de diarreia estão presentes em maior quantidade e são mais facilmente isolados durante a fase aguda ou diarreica do processo infeccioso intestinal.
- Quantidade suficiente de material deve ser coletada para permitir uma completa análise microbiológica. Caso a quantidade seja pequena, priorizar os exames de maior relevância.

### **b) Dados que devem constar no pedido do exame**

- Nome, idade e identificação do laboratório (atendimento, pedido ou prontuário).
- Setor de internamento (quando internado)
- Dados clínicos (suspeita clínica)
- Material específico/sítio



- Data e horário da coleta
- Antibióticos em uso
- Médico solicitante

### **Observações:**

O preenchimento destes dados é fundamental para uma correta escolha dos testes a aplicar, para a interpretação e valorização das culturas, e para a seleção dos antimicrobianos a serem testados.

A requisição quando manual deve constar, de forma legível, o nome do médico e o serviço de procedência do doente (unidade de internamento ou ambulatório), de modo a facilitar os contatos, quando necessários.

### **c) Critérios para transporte das amostras clínicas**

- Tão importante como o cumprimento dos requisitos técnicos de execução da coleta é a forma como as amostras devem ser transportadas e acondicionadas até ao seu processamento.
- A maioria das espécies bacterianas tem seu crescimento prejudicado pela demora em seu processamento, mudança de temperatura, umidade.
- As amostras devem ser enviadas ao laboratório o mais rápido possível.
- Em caso de demora no processamento ou transporte, devem-se estabelecer condições de temperatura para o armazenamento.
- As requisições devem ser enviadas de forma protegida (capa de plástico) e de preferência no exterior da embalagem, sem contato direto com os produtos biológicos.

### **d) Critérios para rejeição de amostra clínica**

- As amostras enviadas ao laboratório devem ser coletadas, transportadas e processadas de forma apropriada.

- Estas amostras devem ser representativas do processo infeccioso.
- Amostras inadequadas podem levar a informações equivocadas, causar erro no diagnóstico e consequente falha no tratamento do paciente.
- Amostras cujo exame bacteriológico apresenta resultados questionáveis e de difícil interpretação, não devem ser cultivadas, por exemplo: ponta de dreno, ponta cateter de Foley, pontos de sutura, secreção de gastrostomia, entre outras.

#### **e) Causas de Rejeição de amostras clínicas**

- Amostras não rotuladas ou sem identificação
- Divergência na identificação do paciente
- Coletores inadequados
- Demora no envio da amostra
- Amostras derramadas ou coletor com rachaduras
- Swab seco com tempo de coleta > 2 horas
- Um swab para múltiplos exames
- Saliva para cultura de aeróbios ou exame direto
- Volume inadequado
- Contaminação visual da amostra

#### **f) Amostra rejeitada devido à sua questionável valorização clínica**

- Swab mucosa oral
- Swab de úlcera de decúbito
- Swab de lesão de pele superficial

- Vômito
- Ponta de cateter de Foley
- Retirada de colostomia
- Aspirado gástrico para cultura de aeróbios
- Amostra de sangue para Gram
- Escarro e urina de 24 horas
- Ponta de cateter em meio de transporte
- Urina contaminada com fezes
- Escarro com excesso de saliva para Gram e cultura para aeróbios
- Swab de ferida de queimadura
- Material recebido em formol

#### **g) Recebimento e observações preliminares para aceitabilidade das amostras**

##### **Ao receber as amostras biológicas observe:**

- Se a amostra está devidamente identificada.
- Se o volume, quando pertinente, está adequado para realização dos exames solicitados.
- Se a amostra foi coletada em meios de transportes e frascos apropriados.
- Se a amostra é adequada para realizar o exame solicitado.
- Não rejeitar ou desprezar uma amostra sem realizar uma avaliação prévia. Lembrar que algumas amostras são obtidas por métodos invasivos, não sendo possível realizar repetição. Ex. líquido pleural, ponta de cateter, biopsias de órgãos, etc.

## **2 UROCULTURA**

### **Cultura de urina, urocultura, cultura 2º jato, cultura quantitativa de urina.**

**2.1 Aplicação:** *A infecção do trato urinário (ITU) é uma das infecções bacterianas mais comuns em pacientes atendidos nas unidades de saúde, especialmente em ambulatórios e uma das principais razões para a prescrição de antibióticos. Dentre as indicações para urocultura estão os pacientes com sinais clínicos compatíveis (disúria, ardor, urgência miccional) ou para pacientes submetidos a procedimentos urológicos invasivos. As infecções do trato urinário (ITU) compreendem várias síndromes, caracterizadas pela presença de micro-organismos no trato urinário e por serem frequentemente acompanhadas de resposta inflamatória aguda e sintomática. As síndromes mais frequentes são: cistite, pielonefrite e bacteriúria assintomática. A cistite é definida como a infecção da bexiga e caracteriza-se por sintomas como disúria e polaciúria. Na pielonefrite, a infecção envolve os rins e a pelve renal e é geralmente associada a sintomas sistêmicos, como a febre. A bacteriúria assintomática é definida como a presença de bactérias na urina na ausência de sintomas. Tem maior significado clínico em gestantes, indivíduos em uso de dispositivos ou submetidos a procedimentos invasivos no trato urinário e crianças com refluxo vesicouretral.*

**2.2 Metodologia:** Cultura semi-quantitativa utilizando alça calibrada de 1µL.

**2.3 Material:** Coletor estéril de boca larga ou tubo com conservante (ácido bórico) e saco coletor plástico feminino e masculino.

**2.4 Volume:** O volume mínimo de urina necessário para a análise é de 1 mL.

**2.5 Preparo do paciente:** De preferência coletar a primeira urina da manhã. Reter a urina por 2 horas antes de realizar o exame se não conseguir coletar a primeira urina da manhã. Não ingerir líquidos em excesso para não diluir a urina ou alterar o número de UFC/mL, gerando resultados falsos negativos. O ideal é que o paciente realize a coleta no próprio laboratório, para evitar resultados falso-positivos em função do tempo de transporte e conservação da amostra.

**2.5.1 Urina de jato médio:**

**a) Mulheres:** Lavar as mãos, separar os grandes lábios. Higienizar a área genital de frente para trás com sabão e água, enxaguar com gaze seca. Desprezar o primeiro jato e sem interromper a micção, colher jato médio.

**b) Homens:** Retrair o prepúcio higienizar a genitália externa com sabão e água, dando atenção especial ao meato uretral, enxaguar com gaze seca. Desprezar o primeiro jato e sem interromper a micção, coletar o jato médio.

**c) Crianças:** Fazer a higiene da região genital, com água e sabão. Enxaguar com gaze seca. Fixar o saco coletor e trocar o saco a cada 30 minutos repetindo a higiene. Se houver contaminação fecal a amostra deve ser desprezada e o procedimento reiniciado. Após a micção, retirar o coletor, fechar e enviar ao laboratório.

**2.5.2 Pacientes com Cateter urinário:** é um procedimento realizado exclusivamente por enfermeiro ou médico, sob-rigorosa técnica de assepsia. Pinçar a cânula do coletor e aguardar pelo menos 1 hora, de modo a haver volume de urina suficiente na bexiga. Realizar a desinfecção da porção superior da cânula com álcool a 70%, aspirar a urina utilizando seringa. Coletar de 5 a 10 mL de urina e transferir para um frasco estéril. NUNCA coletar urina da bolsa coletora do cateter.

**2.5.3 Urina coletada por sonda de alívio:** Desprezar o fluxo inicial (30mL) antes de coletar a amostra para cultura.

**2.5.4 Punção suprapúbica:** É um procedimento realizado exclusivamente por enfermeiro ou médico sob-rigorosa assepsia. A bexiga deve estar cheia e palpável antes da aspiração. A coleta é realizada por punção diretamente da bexiga por aspiração com seringa, após assepsia com álcool a 70%. Após a coleta, a amostra é transferida para um frasco estéril. É indicada para cultura de anaeróbios e coleta infantil quando houver dúvidas na interpretação do resultado. Enviar ao Laboratório de Microbiologia em até 2 horas para cultura de aeróbios ou 30 minutos para anaeróbios em temperatura ambiente.

#### **Observações:**

- Sempre que possível colher antes da antibioticoterapia.

**2.6 Armazenamento:** Refrigerada (2 a 8°C).



**2.7 Estabilidade em coletor estéril:** Até 24 h se refrigerada (2 a 8°C). Estabilidade em tubo com conservante (ácido bórico): Até 48h a temperatura ambiente (20 a 25°C).

**2.8 Prazo para resultado:** 3 a 5 dias.

**2.9 Transporte:** Devem ser transportadas acondicionadas em caixas térmicas sob refrigeração (2 a 8°C).

**2.10 Valor de Referência:** Cultura negativa.

**2.11 Prazo para recebimento:**

- Recomendações para outros laboratórios: Enviar a amostra em até 24 horas se refrigerada (2 a 8°C) ou 48 horas em tubo com ácido bórico em TA , exceto para coleta por punção suprapúbica que deve ser enviada em até 30 minutos em temperatura ambiente (20 a 25°C), quando solicitado cultura para anaeróbios.



### **3 COPROCULTURA**

***Cultura para aeróbios de fezes, coprocultura, cultura para enteropatógenos.***

**3.1 Aplicação:** Exame utilizado para o diagnóstico de diarreias infecciosas, realizando a identificação dos principais micro-organismos causadores de infecções gastrointestinais:

- *E. coli* enteroinvasora;
- *E. coli* enteropatogênica clássica;
- *E. coli* enterohemorrágica;
- *Salmonella* spp e
- *Shigella* spp.

**3.2 Metodologia:** Cultura em meios seletivos e diferenciais (técnica de esgotamento).

#### **3.3 Material:**

**a) Fezes** - devem ser coletadas no início dos sintomas, quando diarreicas e antes de qualquer terapia antibiótica. Nas formas crônicas realizar mais de uma coprocultura. NUNCA coletar da fralda.

**b) Swab Retal** - Introduzir o swab estéril aproximadamente 1 cm além do esfíncter anal. Cuidadosamente rodar o swab e colocar o swab no meio de transporte (Cary-Blair) e enviar ao laboratório. Para facilitar a coleta o swab pode ser umedecido em salina ou água destilada estéril.

**3.4 Volume:** 10 gramas de fezes (1 colher de sobremesa)

**3.5 Preparo do paciente:** Coletar, com o swab uma pequena parte do material em diversas partes do bolo fecal notadamente onde houver muco, pus sangue e transferi-las para o meio de transporte Cary-Blair.

#### **Observações:**



- Não enviar ao laboratório caso tenha sido armazenado em coletor sem meio de transporte.

**3.6 Armazenamento:** Temperatura ambiente ou refrigerada (2 a 8°C).

**3.7 Estabilidade:** Swab com Cary Blair: até 24 horas refrigerada (2 a 8°C).

**3.8 Prazo para resultado:** 3 a 7 dias.

**3.9 Transporte:** Coletor estéril em caixa térmica refrigerada (2 a 8°C).

**3.10 Valor de Referência:** Coprocultura negativa para bactérias enteropatogênicas.

**3.11 Prazo para recebimento:**

- Recomendações para outros laboratórios: As amostras inoculadas em meio de transporte Cary Blair podem ser conservadas refrigeradas (2 a 8°C) por até 24 horas.

## **4 HEMOCULTURA**

### **Hemocultura para Aeróbios, Anaeróbios, Micobacteria e Fungos**

**4.1 Aplicação:** *As infecções de corrente sanguínea (ICS) são consideradas gravíssimas e são responsáveis por uma alta mortalidade na população. O aumento na prevalência das bacteremias tem sido determinado por fatores como o aumento de pacientes com risco de infecções, o surgimento de microorganismos multiressistentes na corrente sanguínea, a difusão de procedimentos diagnósticos e terapêuticos invasivos e o uso de cateteres intravasculares. O diagnóstico da ICS é feito pela detecção de micro-organismos viáveis na corrente sanguínea, definido como bacteremia. O laboratório clínico tem um papel extremamente importante no tratamento desses pacientes, uma vez que a hemocultura positiva é um indicador altamente específico desse tipo de infecção. Outro fato de grande relevância é que a identificação do agente infeccioso e o teste de sensibilidade aos antimicrobianos auxiliam na orientação terapêutica correta, cujo início precoce tem demonstrado redução significativa na taxa de mortalidade.*

**4.2 Metodologia:** Sistema automatizado com metodologia de colorimetria.

**4.3 Material:** Frascos de Hemoculturas

- a) Tampa Verde** – Aeróbios e Fungos (adulto)
- b) Tampa Amarela** – Aeróbios e Fungos (pediátrico)
- c) Tampa Preta** – Micobactérias
- d) Tampa Laranja** – Anaeróbios (adulto e pediátrico)

**Volume:** O volume é uma variável que interfere na sensibilidade e positividade da hemocultura. Para sistemas automatizados colher seguindo as recomendações do fabricante para cada frasco.

- a) Tampa Verde** – Aeróbios e Fungos (adulto): 5 a 10mL

**b) Tampa Amarela** – Aeróbios e Fungos (pediátrico): 1 a 4mL

**c) Tampa Preta** – Micobactérias: 3 a 5mL

**d) Tampa Laranja** – Anaeróbios (adulto): 5 a 10mL e (pediátrico): 1 a 4mL

#### **4.4 Preparo do paciente:**

- Inspeccionar e palpar a veia do braço do paciente para selecionar a mais firme e mais proeminente, de maior relevo a fim de puncioná-la.
- Lavar as mãos com água e sabão.
- Retirar o lacre do frasco, limpar a tampa com álcool a 70%, deixando o algodão sobre o frasco até o momento da punção.
- Selecionar o local da punção e colocar as luvas.
- Garrotear o braço do paciente e selecionar uma veia, fazer antissepsia 2 - 3 vezes, com álcool a 70%, em movimentos circulares de dentro para fora. Não tocar a área já selecionada. Caso necessite apalpar novamente, usar luvas estéreis.
- Aguardar secar (1-2 minutos).
- Coletar a amostra com seringa e agulha descartáveis e transferir para o frasco sem trocar a agulha. A transferência da amostra para os frascos de hemoculturas deve ser feita primeiro no frasco de anaeróbio, sem troca da agulha; se a coleta foi realizada com sistema de coleta fechado, inocular primeiro no frasco aeróbio. Pode-se utilizar escalpe.
- Homogeneizar os frascos. A identificação dos frascos deve conter além do código de barra com dados do paciente a sinalização (1ª, 2ª ou 3ª amostras). Dispensar o material de coleta em local apropriado, isto é, em caixa de material perfurocortante.
- Enviar ao laboratório sem refrigerar.

#### **Observações:**

- Não se recomenda a coleta de uma única amostra de hemocultura, devido à possibilidade de não ser detectada a bacteremia ou fungemia, bem como, dificultar a interpretação do significado clínico do isolamento de micro-organismos considerados como prováveis contaminantes, mas que podem ser associados as ICS, especialmente em pacientes imunocomprometidos.
- Exceções podem ocorrer em pacientes que apresentem sinais de bacteremias durante uma infusão de medicamentos ou hemodiálise ou em pacientes onco-hematológicos para controle de tratamento ou vigilância de infecção.
- Não fazer anotações nem colar etiquetas sobre o código de barras do frasco.
- Não colar em hipótese alguma nenhum tipo de etiqueta no fundo do frasco.

**4.5 Números de amostras:** Considera-se que o número de amostras mínimo recomendado deve ser 2 a 4 pares por episódio de bacteremia. Indica-se que maior percentual de positividade se alcança quando se introduz frascos anaeróbios na coleta. Assim recomenda-se 2 amostras na primeira punção (1 frasco aeróbio e 1 anaeróbio) e duas na segunda punção, visto que as bactérias anaeróbias facultativas (ex. Streptococcus, Staphylococcus, alguns BGN) podem ter seu isolamento favorecido pelas características e nutrientes contidos no meio para anaeróbios. Quando existe uma suspeita clínica de fungemia, deve-se introduzir o frasco para Fungos.

**4.6 Armazenamento:** Temperatura ambiente (20 a 25°C).

**4.7 Estabilidade:** Até 12 horas à temperatura ambiente (20 a 25°C).

**4.8 Prazo para resultado:** 6 dias (aeróbios e anaeróbios); 16 dias (fungos) e 45 dias (micobactérias).

**4.9 Transporte:** Devem ser transportadas acondicionadas em caixas com refrigeração.

**4.10 Valor de referência:** Cultura negativa.

**4.11 Prazo para recebimento:**

- Recomendações para outros laboratórios: Enviar amostras até 12 horas após a coleta em temperatura ambiente (20 a 25°C).

## **5 PONTA DE CATETER**

***Cultura para aeróbios e/ou fungos da ponta de cateter, cultura do cateter, cultura quantitativa da ponta do cateter.***

**5.1 Aplicação:** *Cateteres intravenosos são considerados importantes fontes de bacteremia e fungemia, além de serem associados a complicações infecciosas no local da inserção. Na presença de sinais de infecção ou suspeita de colonização do cateter (eritema, presença de pus), existe indicação do cultivo da ponta do cateter. A cultura é importante para se determinar a relação entre colonização ou infecção. O resultado obtido depende da técnica de retirada do cateter, que deve obedecer aos mesmos critérios de desinfecção utilizados na introdução do cateter. As infecções de cateteres são clinicamente importantes e devem ser diagnosticadas rapidamente, para evitar o desenvolvimento de bacteremias ou fungemias.*

**5.2 Metodologia:** Cultura Semi-quantitativa (Método de Maki et al).

**5.3 Material:** Tubo ou coletor seco estéril. Não utilizar meio de transporte.

**5.4 Volume:** 5 cm da parte distal

**5.5 Preparo do paciente:**

Fazer uma rigorosa antissepsia da pele ao redor do local de inserção do cateter com álcool a 70%.

Remover o cateter e assepticamente cortar 5 cm da parte mais distal, ou seja, a que estava mais profundamente introduzida na pele.

Não devem ser usadas tesouras embebidas em soluções antissépticas.

Colocar a ponta do cateter num frasco estéril sem meio de cultura.

O material deve ser transportado imediatamente ao laboratório evitando com isso a secagem do material coletado e para a manutenção da microbiota original.

**Observações:**

- Cateteres aceitáveis para cultura semi-quantitativa: Central, CVP, Hickman, Broviac, periférico, arterial, umbilical, parenteral e Swan-Ganz.
- Não há significado clínico estabelecido para cultura de ponta de cateter na ausência de hemoculturas concomitantes em um intervalo de tempo de 24 horas.

- Amostras encaminhadas em salina, caldo ou meio de transporte não devem ser processadas; Sonda de Foley (vesical) não tem valor interpretativo, uma vez, que o crescimento pode representar a microbiota uretral distal.

**5.6 Armazenamento:** tubo ou coletor estéril seco à temperatura ambiente (20 a 25°C).

**5.7 Estabilidade:** Até 2h à temperatura ambiente (20 a 25°C) ou até 12 horas se refrigerado

**5.8 Prazo para resultado:** 3 a 5 dias.

**5.9 Transporte:** Devem ser transportadas em tubos ou coletores, acondicionadas em caixas térmicas à temperatura ambiente (20 a 25°C) ou refrigerada se o tempo ultrapassar 2 horas.

**5.10 Valor de Referência:** Cultura negativa.

**5.11 Prazo para recebimento:**

**Recomendações para outros laboratórios:** Enviar a amostra em até 2 horas à temperatura ambiente (20 a 25°C) ou refrigerada por até 12 horas, se o armazenamento ultrapassar 2 horas.

**Tempo de transporte ambulatorial:** Enviar a amostra em até 2 horas à temperatura ambiente (20 a 25°C) ou até 12 horas se refrigerado.

**Tempo de transporte hospitalar:** Enviar a amostra em até 2 horas à temperatura ambiente (20 a 25°C).

## **6 LÍQUIDOS BIOLÓGICOS**

***Cultura para aeróbios, fungos e micobactérias de líquidos orgânicos (líquido ascítico, peritoneal, pericárdico, biliar, sinovial e pleural).***

**6.1 Aplicação:** *Vários líquidos estéreis de determinadas cavidades podem ser infectados por bactérias ou fungos, vírus e parasitas. Por se tratar de sítios considerados estéreis, o achado de qualquer quantidade de micro-organismos pode configurar um processo infeccioso e deve ser valorizado pelo microbiologista.*

**6.2 Metodologia:** Cultura em meios não seletivos e diferenciais (técnica de esgotamento) para isolamento de micro-organismos Gram negativos, Gram positivos, Fungos e Micobactérias.

**6.3 Material:** Coletor ou tubo estéril e/ou frascos de Hemoculturas.

**6.4 Volume:** Mínimo de 10 ml quando acondicionados em coletores estéreis. Quanto maior o volume da amostra, maior a probabilidade de isolar o agente etiológico.

O volume mínimo do material a ser inoculado nos frascos é de 1mL, sendo o volume ideal 5 a 10 mL para frascos de hemoculturas.

### **6.5 Preparo do paciente:**

A coleta dos líquidos orgânicos (ascítico, articular, pericárdico, pleural, prostático, peritoneal, seminal, biliar) deve ser feita exclusivamente por médico após rigorosa assepsia do local. Obter a amostra através de punção percutânea ou cirúrgica.

Após a coleta, encaminhar o líquido coletado em frasco seco e estéril ou inoculado diretamente nos frascos do equipamento de automação de hemoculturas (fazer assepsia da tampa do frasco de hemocultura com álcool 70%), respeitando a proporção entre material e meio de cultura de no máximo 1 parte de líquido em 9 partes de meio de cultura (1:10).

Nesse caso, reservar volume para a confecção da lâmina para microscopia (Gram, Ziehl, Pesquisa para Fungos) ou para outros exames (citológico, testes sorológico, etc).





**6.6 Observações:** Não receber a amostra se não for coletada em frasco estéril ou se for armazenado inadequadamente (temperatura ambiente por longo tempo, sem meio de transporte).

**6.7 Armazenamento:** Temperatura ambiente (20 a 25°C) até 2 horas e/ou refrigerado (2 a 8°C) até 24 horas. Frasco hemocultura: 12 horas em temperatura ambiente (20 a 25°C).

**6.8 Prazo para resultado:** 3 a 6 dias (aeróbios), 16 dias (fungos) e 46 dias (BK).

**6.9 Transporte:** Coletor estéril ou frasco de hemocultura em caixas térmicas sem refrigeração.

**6.10 Valor de Referência:** Cultura negativa.

**6.11 Prazo para recebimento:**

**6.12 Recomendações para outros laboratórios:** Até 12 horas temperatura ambiente se transportado em frasco de hemocultura. Coletor estéril - 2 horas a temperatura ambiente ou até 24 horas se refrigerado (2 a 8°C).

## **7 LÍQUOR**

### ***Cultura de líquido para aeróbios, fungos e micobactérias.***

**7.1 Aplicação:** *Este exame é útil no diagnóstico etiológico das meningites bacterianas ou causadas por fungos. O líquido é uma amostra nobre de difícil obtenção, recomenda-se que haja rigor especial em todas as fases de um procedimento associado a esse material. A cultura do líquido é direcionada principalmente ao isolamento de bactérias aeróbias, anaeróbias facultativas, fungos e micobactérias. Entre os micro-organismos mais frequentemente isolados nessa cultura destacam-se: N. meningitidis, S. pneumoniae, H.influenzae tipo B, S. agalactiae, enterobactérias, Cryptococcus sp., entre outros.*

**7.2 Metodologia:** Cultura em meios não seletivos e diferenciais (técnica de esgotamento) para isolamento de micro-organismos Gram negativos, Gram positivos, Fungos e Micobactérias.

**7.3 Material:** Tubo seco estéril, sem anticoagulante, sem aditivo e sem gel.

**7.4 Volume:** 2 a 5 mL.

**7.5 Preparo do paciente:** Fatores desse processo, como a técnica de coleta, temperatura, tempo de transporte e de estocagem e as condições do preparo da amostra, necessitam de padronização para evitar resultados equivocados que possam comprometer o diagnóstico e a conduta médica.

O volume de Líquor a ser coletado deve ser cuidadosamente avaliado com base nas análises que serão necessárias de acordo com a hipótese diagnóstica.

Recomenda-se a coleta em 2 a 3 tubos estéreis e um volume total entre 6 e 12 mL para adultos, 4 e 8 mL para crianças e 2 e 3 mL em lactentes e recém-nascidos.

**7.6 Observações:** No caso de uso prévio ou atual de antimicrobianos, o nome do medicamento tem de ser informado ao laboratório. A administração de antimicrobianos não impede a realização da cultura, mas em algumas situações, pode interferir no resultado. A cultura é a metodologia de maior sensibilidade para o diagnóstico das meningites bacterianas ou fúngicas, possibilitando, além da identificação do agente, a realização de provas de avaliação da sensibilidade aos antimicrobianos.

**7.7 Armazenamento:** Temperatura ambiente (20 a 25°C).



**7.8 Estabilidade:** Até 2 horas à temperatura ambiente (20 a 25°C).

**7.9 Prazo para resultado:** 3 a 5 dias (aeróbios), 16 dias (fungos) e 46 dias (BK).

**7.10 Transporte:** Em temperatura ambiente, entre 20 a 25°C.

A amostra não deve ser exposta a refrigeração e nem a calor ou frio excessivos.

Deve ser enviada em até 2 horas ao laboratório, a fim de ser processado o mais rápido possível.

Pelo fato da temperatura de transporte ser ambiente é um fator crítico, é recomendada e admitida à refrigeração do líquido apenas nos casos em que ele será processado por métodos moleculares ou para realização de exames diretos.

Transportar em caixas térmicas.

**7.10 Valor de Referência:** Cultura negativa.

**7.11 Prazo para recebimento:**

Recomendações para outros laboratórios: Enviar em 2 horas após coleta em tubo seco estéril na temperatura ambiente (20 a 25°C) ou 1 hora em caso de suspeita de *N. meningitidis* ou *H. influenzae*.

## **8 BIÓPSIAS**

### ***Cultura de biópsias (fragmento de tecido) para aeróbios, fungos e micobactérias.***

**8.1 Aplicação:** A biópsia é um procedimento no qual é retirada uma pequena amostra de tecido (ou células) de qualquer parte do corpo humano para ser examinada em laboratório. É comumente utilizada para diagnosticar câncer e, em alguns casos, infecções bacterianas e fúngicas.

**8.2 Metodologia:** Cultivo em meios sólidos e líquidos.

**8.3 Material:** Fragmento de biópsia de amostras diversas.

**8.4 Volume:** 2-3 fragmentos (pequenos) de acordo com as solicitações (aeróbios, fungos e micobactérias).

**8.5 Preparo do paciente:** A coleta do fragmento de biópsia foi realizada com "punch" 4 mm, sendo retirado fragmento da epiderme, derme e pequena porção do tecido celular subcutâneo. Mesmo nas pequenas biópsias, é muito importante informar ao médico sobre alergias, cirurgias anteriores e medicamentos utilizados, principalmente aspirina e anticoagulantes.

a biópsia de feridas abertas destinadas a cultura e exames diretos deve-se realizar a biópsia da borda da lesão, após desbridamento e antes do próximo curativo.

As mulheres grávidas devem avisar o profissional antes da realização do procedimento. O procedimento geralmente é seguro. Existe um pequeno risco de sangramento ou infecção no local onde é feita a biópsia. Não é necessária internação e o risco de complicações é mínimo.

**8.6 Observações:** Não processar amostra transportada sem salina ou meio de transporte, caso o tempo entre a coleta e o recebimento da amostra ultrapasse 2 horas.

**8.7 Armazenamento:** Coletar amostra de tecido ou biópsia em frasco ou coletor estéril sem formol ou outro conservante em temperatura ambiente ou refrigerado se necessário.

**8.8 Estabilidade:** Material em meio de transporte (salina): Até 2 horas à temperatura ambiente (20 a 25°C) ou em até 24 horas se refrigeradas (2-8 °C).

**8.9 Prazo para resultado:** 3 a 5 dias (aeróbios), 25 dias (fungos) e 60 dias para micobactérias.

**8.10 Transporte:** Tubo com salina estéril transportado em caixa térmica refrigerada (2-8 °C).



**8.11 Valor de Referência:** Para sítios com microbiota: presença de micro-organismos da microbiota.

Para sítios estéreis: cultura negativa.

**8.12 Prazo para recebimento:**

Recomendações para outros laboratórios: As amostras podem ser encaminhadas em coletor estéril com salina em até 2 horas a temperatura ambiente (20 a 25°C) ou em até 24 horas se refrigeradas (2 a 8 °C).

## **9 CULTURA DE SECREÇÕES DIVERSAS**

***Cultura de pele, escaras, pústulas, fistulas, abscessos, exudatos.***

**9.1 Aplicação:** *Cultura para bactérias aeróbias e facultativas em amostras diversas para o diagnóstico de infecções bacterianas e fúngicas. Quando positiva permite a realização do teste de sensibilidade aos antimicrobianos.*

**9.2 Metodologia:** Cultura em meios sólidos seletivos e não seletivos.

**9.3 Material:** Amostras de tecido coletadas por processo cirúrgico ou aspirado com agulha e seringa são consideradas as melhores amostras para cultura. O material representativo é aquele obtido das margens e da profundidade da lesão e não da parte purulenta ou exsudato superficial. Diferenciar se a coleta é de ferida superficial ou profunda.

### **a) Lesão aberta (escara, ferida cirúrgica)**

Fazer assepsia das margens e a superfície da lesão com clorexidina aquosa a 2% ou solução fisiológica estéril.

Coletar a amostra da parte mais profunda, utilizando, se possível, seringa e agulha.

Se o material for escasso colher com swab.

De preferência coletar por biópsia da borda da lesão.

Enviar imediatamente ao laboratório.

### **b) Abscessos fechados e nódulos**

Fazer uma assepsia com álcool a 70% ou clorexidina aquosa a 2%.

Limpar com solução fisiológica estéril.

Aspirar com agulha e seringa ou utilizar o swab após perfuração, se o material for escasso.

### **c) Ferida de queimadura**

A cultura realizada da superfície da pele é inadequada.

A biópsia do tecido profundo é mais indicada.

Realizar coleta após desbridamento e descontaminação com solução fisiológica e gaze estéril.

Realizar biópsia (3-4 mm) e colocar em coletor ou tubo estéril com solução fisiológica.

#### **d) Pústula e vesícula**

Fazer uma assepsia com álcool a 70% e puncionar.

Lesão seca, remover a crosta após antissepsia e coletar com swab.

**9.3 Volume:** Sempre que possível coletar a amostra por aspiração ou biópsia, quando não for possível, coletar o material com swab estéril, dando-se preferência ao material seroso das bordas da ferida, obtido após limpeza e desbridamento e sempre antes do próximo curativo em casos de lesões abertas.

**9.4 Amostras coletadas em swab** – 1 a 2 swabs caso seja necessária a realização de exame direto (swab seco – sem meio de transporte).

**9.5 Biópsia de escara** – 1 a 2 fragmentos (3-4 mm) em salina.

**9.6 Amostras coletadas por punção** – volume  $\geq 1\text{mL}$ .

#### **9.7 Preparo do paciente:**

Lavar as mãos, calçar as luvas.

Limpar as margens e superfície da lesão com solução fisiológica ou álcool a 70% em caso de lesões fechadas.

Coletar o material da parte mais profunda da ferida, utilizando de preferência aspirado com seringa e agulha.

Quando a punção com agulha não for possível, aspirar o material com seringa de insulina.

Quando for realizada aspiração da lesão, após a coleta, tampar a seringa com tampinha de equipo (ou tampa tipo CombRed).

Swabs (menos indicado) devem ser utilizados apenas quando os procedimentos acima descritos não forem possíveis.

A escarificação das bordas após antissepsia pode produzir material seroso que é adequado para cultura.

#### **9.8 Observações:**

O paciente não deve fazer uso de medicamento tópico, antissépticos ou hidratantes no dia da coleta.

A limpeza da superfície das lesões ou abscessos abertos, antes da coleta é crítica para interpretação do resultado.

Não coletar o pus emergente (pus aparente).

O material das margens da lesão e a parte mais profunda do sítio a ser coletado são mais representativos, além de apresentar maior viabilidade dos micro-organismos.

Não se recomenda o processamento de lesões secas e crostas.

Feridas de queimaduras devem ser coletadas após limpeza extensa da lesão (desbridamento), sendo mais recomendada a coleta por biópsia das bordas das lesões.

**9.9 Armazenamento:** Temperatura ambiente (20 a 25°C) ou refrigerada (2 a 8°C), transportado em caixa térmica.

**9.10 Estabilidade:** Material em meio de transporte (salina) - Temperatura ambiente (20 a 25°C) até 2 horas ou em até 24 horas se refrigeradas (2 a 8°C).

**9.11 Material em swab seco** – imediatamente após a coleta.

**9.12 Prazo para resultado:** 3 a 5 dias.

**9.13 Transporte:** Swab com meio de transporte (Stuart), tubo ou coletor estéril seco. Todo material coletado deve ser identificado separadamente para cada sítio a ser processado. Material coletado por aspiração com volume  $\geq 5$  mL pode ser injetado direto no frasco de hemocultura e ser enviado em 2 horas à temperatura ambiente (20 a 25°C).

**9.14 Valor de Referência:** Cultura negativa.

**9.15 Prazo para recebimento:**

Recomendações para outros laboratórios: Enviar em meios de transporte apropriado (tubo com salina ou swab com meio de transporte) em até 2 horas à temperatura ambiente (20 a 25°C) ou refrigerar (2 a 8°C) por até 24 horas.

## ***10 TRATO RESPIRATÓRIO SUPERIOR***

***Cultura de orofaringe, nasal, seio maxilar e aspirado sinusal***



**10.1 Aplicação:** A cultura de orofaringe, tonsila (amígdala) e faringe são os principais exames do trato respiratório superior solicitado, além de seios maxilares, amostras da mucosa oral (Candidíase oral), secreção nasofaringe para pesquisa de portadores de *Staphylococcus aureus* MRSA e *Neisseriameningitidis*. Swab nasal: Exame solicitado com objetivo de avaliar a microbiota local e para a detecção de micro-organismos patogênicos, tais como *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus beta-hemolíticos* dos grupos C e G, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Moraxellacatarrhalis* e *S. aureus*, entre outros. Outro objetivo da cultura é a detecção de portadores assintomáticos de *S. aureus* e, em ambiente hospitalar, para a identificação de *S. aureus* resistentes à oxacilina (MRSA). Swab oral: Exame solicitado com objetivo de avaliar a microbiota local e para a detecção de microorganismos patogênicos, tais como *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus beta-hemolíticos* dos grupos C e G, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Moraxellacatarrhalis* e *S. aureus*, entre outros. Pode-se realizar a pesquisa de *S. pyogenes* (teste rápido). Embora o teste não tenha uma sensibilidade maior que a cultura, pode fazer diagnóstico mais rápido do *S. pyogenes* (b-hemolítico grupo A). Seios maxilar e sinusal: a realização da cultura visa o isolamento de micro-organismos envolvidos em sinusite por bactérias e fungos. Os agentes causais mais comuns de sinusites agudas nos adultos são o *S. pneumoniae* e *H. influenzae*; nas crianças, além destes, há também a *M. catarrhalis*. Nas sinusites crônicas, os agentes predominantes em adultos são os germes anaeróbios e o *S. aureus*.

**10.2 Metodologia:** Cultura em meios sólidos seletivos e não seletivos.

### **10.3 Material:**

**a) Secreção de orofaringe:** Utilizar um abaixador de língua, pressionar e rolar o swab sobre as tonsilas e faringe posterior, especialmente na área com hiperemia adjacente aos pontos com pus ou placas, evitando tocar na língua e na mucosa oral. Colocar o swab em tubo com meio de transporte enviar imediatamente ao laboratório ou em meio de transporte e encaminhar em até 12 horas à temperatura ambiente (20 a 25°C) ou até 24 horas se refrigerado.

**b) Amostra nasal (portadores):** Colher de ambas as narinas ou conforme solicitação. Inserir um swab 1cm dentro das narinas. Fazer movimentos rotatórios na mucosa nasal por 10 a 15 segundos. Colocar o swab em meio de transporte e encaminhar em até 12 horas à temperatura ambiente (20 a 25°C) ou até 24 horas se refrigerado.

**c) Punção de seio maxilar e aspirado sinusal :** Procedimento realizado pelo médico e o material encaminhado em tubo estéril até 12 horas após coleta em temperatura ambiente (20 a 25°C).

**10.4 Volume:** Amostras coletadas em swab – 1 a 2 swabs caso seja necessária a realização de exame direto (swab com meio de transporte). Amostras coletadas por punção – volume  $\geq$  1mL.

**Preparo do paciente:** Swab nasal: Com um swab umedecido em água estéril ou soro fisiológico limpar a narina e em seguida inserir outro swab seco 1cm dentro da narina direita conforme a solicitação médica. Fazer movimentos rotatórios na mucosa nasal por 10 a 15 segundos. Colocar o swab em meio de transporte e enviar imediatamente ao laboratório ou encaminhar em meio de transporte à temperatura ambiente (20 a 25°C) para o laboratório. Este tipo de coleta é realizado pelo laboratório. Swab oral: Lavar as mãos, calçar as luvas, solicitar ao paciente que abra bem a boca. Instruir o paciente que respire profundamente, abaixar a língua do paciente com abaixador de língua. Introduzir o swab e fazer esfregaço entre as amígdalas e faringe posterior (exatamente nas áreas inflamadas apresentando pontos de pus), evitando tocar na língua e mucosa bucal. Colocar o swab no tubo com meio de transporte (Stuart) e fechar. Não necessita jejum, apenas em caso de crianças para evitar vômito durante a coleta. (Necessária 2 horas sem se alimentar). Pode fazer higiene bucal (escovação) antes da coleta, sem usar antisséptico. De preferência coletar no próprio laboratório. Punção seio maxilar: Fazer assepsia no local da punção com álcool a 70%.

#### **Observações:**

**10.5 Secreção Nasal:** O paciente não deve fazer uso de medicamento tóxico no dia da coleta.

**10.6 Secreção orofaringe:** O paciente pode fazer uma higiene oral (escovação), não utilizar antisséptico, não deve se alimentar para evitar vômito em um período de 2 horas que antecede a coleta. Na suspeita de angina de Vincent, convém solicitar também exame bacterioscópico (Gram). A administração de antimicrobianos não impede a realização da cultura, mas, em algumas situações, pode interferir no resultado. Em pacientes imunodeprimidos, a pesquisa de Bastonetes Gram negativos deve ser considerada.

**10.7 Armazenamento:** Temperatura ambiente (20 a 25°C) ou refrigerada (2 a 8°C).

**10.8 Estabilidade:** Material em meio de transporte (Stuart) – até 12 horas se refrigeradas (2 a 8°C).

**10.9 Prazo para resultado:** 3 a 5 dias.

**10.10 Transporte:** Swab com meio de transporte (Stuart). Todo material coletado deve ser identificado separadamente para cada sítio a ser processado. Material coletado por aspiração com volume  $\geq 5$  mL pode ser injetado direto no frasco de hemocultura e ser enviado em 12 horas à temperatura ambiente (20 a 25°C) em caixas térmicas apropriadas.

**10.11 Valor de Referência:** Cultura negativa ou presença de micro-organismos da microbiota normal.

**10.12 Prazo para recebimento:**



Recomendações para outros laboratórios: Enviar os swabs em meios de transporte refrigerados (2 a 8°C) por até 12 horas.

## **11 Trato Respiratório Inferior**

**Cultura de secreção trato respiratório inferior (escarro, aspirado traqueal, lavado brônquico, biópsia transbrônquica, escovado brônquico, LBA).**

**11.1 Aplicação:** As infecções do trato respiratório inferior incluem variadas etiologias, podendo ser de origem bacteriana ou viral e variando desde infecções mais leves (bronquites) até quadros mais graves como é o caso das pneumonias. O diagnóstico etiológico sobre interferência do crescimento da microbiota normal do trato superior, especialmente durante a coleta. Estes micro-organismos podem na maioria das vezes interferir no isolamento dos verdadeiros patógenos, assim, a amostra deve ser avaliada microscopicamente para avaliar a presença de células inflamatórias e a predominância do micro-organismo no exame direto (Gram). Os agentes etiológicos isolados podem variar a depender do tipo de infecção comunitária (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. aureus*, *M. catarrhalis*) ou hospitalar (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. aureus*, *Aspergillus spp.*).

**11.2 Metodologia:** Diluição com alça calibrada 1uL ou técnica quantitativa com fluimicil e semeadura em cultura em meios sólidos seletivos e não seletivos.

### **11.3 Material:**

**a) Escarro:** Esse exame requer um jejum mínimo de quatro horas. A coleta deve ser preferencialmente pela manhã, período durante o qual o paciente usualmente tem maior quantidade de secreção respiratória, portanto, recomenda-se que a coleta de escarro seja feita antes do café da manhã. Amostras representativas do sítio de infecção devem apresentar mais de 25 leucócitos polimorfonucleares e menos de dez células epiteliais pavimentosas por campo, em aumento de 10X. Amostras fora dessas especificações são rejeitadas, excetuando pacientes neutropênicos, como os transplantados de medula óssea, podem não apresentar leucócitos polimorfonucleares no escarro e, neste caso, apenas a avaliação da quantidade de células epiteliais deve ser considerada.

**b) Escarro expectorado:** Orientar o paciente para escovar os dentes e/ou enxaguar a boca com água várias vezes, para minimizar a microbiota bacteriana e colher a amostra após tossir profundamente. Colher o escarro obtido por expectoração profunda (tosse diafragmática), observando bem o processo para que a amostra obtida seja realmente escarro, e não saliva. Colher diretamente em frasco estéril de boca larga com tampa de rosca. Pacientes com fibrose cística devem informar essa condição, pois o processamento da amostra e interpretação da cultura difere daquela aplicação à população sem essa patologia. Orientar o paciente para colher uma amostra por dia. Em portadores de fibrose cística com dificuldade de expectoração espontânea, pode-se realizar a coleta com swab de orofaringe.

**c) Escarro induzido:** Coleta indicada para pacientes com pouca expectoração (tosse seca), especialmente para pacientes com suspeita de *M. tuberculosis* ou *P. jiroveci*. Colher de ambos as narinas ou conforme solicitação. Coletar o escarro em coletor estéril com boca larga, após realizar uma nebulização com 20 a 30 mL de solução de NaCl a 3%.

**d) Aspirado traqueal:** Amostra é coletada pelo médico ou fisioterapeuta por meio de aspiração com sonda em pacientes intubados e em uso de ventilação mecânica. A coleta é realizada diretamente em coletor estéril apropriado acoplado ao sistema de sucção. O resultado da cultura deve ser avaliado com critério em função da presença da colonização endotraqueal.

**e) Lavado brônquico:** Amostra coletada durante broncoscopia, que consiste em injetar 20 a 30 mL de salina estéril (0,85%) diretamente nos brônquios e aspirar suavemente o volume injetado. Colocar a amostra em coletor estéril (em caso de coleta de brônquico direito e esquerdo colocar em coletores separados).

**f) Lavado broncoalveolar:** Amostra coletada durante broncoscopia, a amostra vem diretamente dos bronquíolos e alvéolos pulmonares. Consiste em injetar 20 a 30 mL de salina estéril a 0,85% em adultos e 5 a 10 mL em crianças pelo broncoscópio e lavar os alvéolos. Coletar a amostra após várias lavagens nos alvéolos e colocar em tubos estéreis diferentes (primeiro tubo deve ser enviado para cultura e exames diretos).

**g) Escovado brônquico protegido:** O material é obtido da própria escova, colocado em tubo com 1 mL de salina estéril e enviando imediatamente para o laboratório. Esta coleta é mais indicada para pesquisa de vírus e citologia.

**h) Biópsia transbrônquica:** Realizada através de broncoscopia e enviada para o laboratório em tubo com 1 mL de salina estéril.

**11.4 Volume:** Enviar no mínimo 1 mL de lavado broncoalveolar ou secreção traqueal, em frasco estéril descartável com tampa de rosca. Escarro deve ser avaliado a presença de secreção purulenta (pontas). Não aceitar com excesso de saliva.

**11.5 Preparo do paciente:** A coleta de lavado, escovado e secreção traqueal é realizada pela equipe especializada (médico, fisioterapeuta e enfermeiro), durante a broncoscopia ou no caso de escarro após orientação da equipe de apoio a coleta ou equipe médica. A broncoscopia é realizada com jejum de 4 a 6 horas, conforme orientação médica. Colher de preferência o primeiro escarro da manhã e antes da ingestão de alimentos.

#### **Observações:**

**11.6 Amostras não aceitáveis:** amostras com excesso de saliva para cultura de aeróbios, amostras coletadas há mais de 24 horas e conservadas à temperatura ambiente (20 a 25°C). O resultado da cultura quantitativa deve ser correlacionado com achados clínicos e radiológicos. Não deve ser utilizado como único critério para diagnóstico de pneumonia. Esse exame pode ser feito em lavado broncoalveolar, escovado brônquico protegido, minilavado broncoalveolar e secreção traqueal. No caso de uso prévio ou atual de antimicrobianos, deve ser informado o nome do medicamento. Convém salientar que a administração de antimicrobianos não impede a realização da cultura, mas pode interferir no resultado, em algumas situações.

**11.7 Armazenamento:** Temperatura ambiente (20 a 25°C) ou refrigerada (2 a 8°C).

**11.8 Estabilidade:** • Temperatura ambiente: até 2 horas; Refrigerado (2 a 8°C): 24 horas; Congelado (-20 °C): não aceitável.

**11.9 Prazo para resultado:** 3 a 5 dias.

**11.10 Transporte:** Enviar ao laboratório em temperatura ambiente (20 a 25°C) em 2 horas após a coleta ou refrigerar (2 a 8°C) por até 24 horas. Enviar todo material em caixas térmicas apropriadas e refrigeradas.

**11.11 Valor de Referência:** Os valores de corte para valorização dos micro-organismos isolados em culturas (quantitativas) de amostras do trato respiratório inferior, são:

**11.12 Escovado Protegido** - contagem bacteriana  $\geq$  a  $10^3$  UFC/mL (1.000 UFC/mL)

**11.13 Lavado Broncoalveolar** - contagem bacteriana  $\geq$  a  $10^4$  UFC/mL (10.000 UFC/mL)

**11.14 Mini-Lavado Broncoalveolar** - contagem bacteriana  $\geq$  a  $10^4$  UFC/mL (10.000 UFC/mL)  
Secreção Traqueal - contagem bacteriana  $\geq$  a  $10^5$  UFC/mL (100.000 UFC/mL)

**11.15 Prazo para recebimento:**

Recomendações para outros laboratórios: Enviar a amostra no próprio recipiente de coleta em até 2 horas após a coleta ou refrigerados (2 a 8°C) por até 24 horas.

## **12.0 TRATO GENITAL**

***Cultura secreção vaginal, secreção uretral, secreção endocervical, secreção prostática, esperma, cultura para S. agalactiae, lesão genital.***

**12.1 Aplicação:** *As infecções do trato genital masculino e feminino podem ser de etiologia bacteriana, fúngica, parasitária ou viral. A presença de um desequilíbrio hormonal e de pH pode ocasionar infecções por micro-organismos da própria microbiota, tais com Gardnerellavaginalis e leveduras. Nas mulheres as infecções mais comuns são: vulvovaginites, vaginose, cervicite, doença inflamatória pélvica e lesões genitais. Nos homens destacam-se as uretrites, epididimites, prostatites e lesões genitais. Nas gestantes, sobretudo entre a 35ª e a 37ª semana de gravidez, recomenda-se solicitar cultura específica para Streptococcusagalactiae (betahemolítico do grupo B), pois a sensibilidade aumenta quando esse agente é pesquisado em material de secreção vaginal (um terço inferior da parede vaginal é suficiente) e retal. Já as pesquisas de Mycoplasmahominis, Ureaplasmaurealyticum/parvum e Chlamydiatrachomatis necessitam de métodos especiais de detecção e de pedidos específicos do clínico.*

**12.2 Metodologia:** Cultivo em meios sólidos e líquidos específicos.

### **12.3 Material:**

**a) Secreção vaginal (coleta realizada por profissional habilitado):** Após inserir o espéculo, retirar o excesso de secreção com gaze estéril. Inserir o swab e coletar material do fundo do saco e da parede vaginal. Amostras coletadas sem espéculo devem-se inicialmente retirar o excesso da secreção externa com gaze do introito vaginal e inserir um swab no introito fazendo movimentos de rotação para coletar a amostra. Após a coleta confeccionar uma lamina para microscopia (colocar a lâmina no frasco porta-lâminas) levar o mesmo swab para um tubo com salina para pesquisa de Trichomonasvaginalis e fungos e com outro swab coletar a amostra e enviar ao laboratório em meio de transporte.

**b) Secreção endocervical (coleta realizada por profissional habilitado):** Inserir o espéculo, localizar o colo do útero, retirar o excesso de muco com gaze estéril, inserir o swab e coletar material da região endocervical. Sempre coletar separado da secreção vaginal, utilizando swabs diferentes e confeccionar as lamina dos dois sítios diferentes.

**c) Secreção uretral :** Remover o excesso de secreção do meato uretral, inserir cerca 2cm um swab com haste flexível (metal), coletar realizando movimentos rotatórios e remover o swab. Preparar o esfregaço em lâmina de vidro e coletar outro swab e colocar em meio de transporte para cultura.

**d) Secreção prostática:** Amostra é útil para diagnosticar prostatite crônica e avaliar infecção do trato urinário de repetição. Coleta realizada no consultório médico após massagem prostática.

**e) Pesquisa de Streptococcusagalactiae:** Devem ser coletadas amostras vaginal e anorretal. Sem utilizar espéculo, introduzir o swab no introito vaginal e com movimentos rotatórios coletar a amostra no terço distal da vagina. Pode-se utilizar o mesmo swab e coletar em seguida a amostra anorretal ou

coletar amostras separadas. Após a coleta colocar o(s) swab(s) em meio de transporte e enviar ao laboratório. Não necessita fazer esfregaço em lâmina para exame direto.

**f) Lesão genital (vulvar ou peniana):** Limpar a superfície da lesão com solução fisiológica estéril e coletar o exsudato ou área de eritema com swab. Em caso de presença de vesículas, aspirar com seringa e agulha ou romper a vesícula e coletar com swab. Volume: 1 swab com meio de transporte para cada cultura (aeróbia, fungos, gonococo); 1 lâmina com esfregaço ou swab seco para pesquisa de Gardnerellavaginalis; 1 lâmina com esfregaço ou swab seco para Gram; 1 swab seco com salina para pesquisa de Trichomonasvaginalis; 1 swab seco com salina para pesquisa de fungos; 1 swab seco para cultura de Mycoplasmahominis, Ureaplasmaurealyticum

**12.4 Preparo do paciente:** o paciente deve realizar higiene íntima habitual com água e sabonete, antes da coleta. Nas 48 horas anteriores ao exame, é necessário seguir os cuidados abaixo: Não usar creme e/ou óvulo vaginal; Não utilizar ducha nem fazer lavagem interna; Não realizar exame ginecológico com toque e/ou ultra-sonografia transvaginal. Não manter relações sexuais, com ou sem uso de preservativos. Ideal não fazer o exame durante a menstruação.

Se o exame for solicitado junto com cultura de secreção uretral, a cliente deve ficar pelo menos duas horas sem urinar antes da coleta. Em crianças e virgens, a coleta deve ser feita pela manhã, antes do banho. No caso de uso prévio ou atual de antimicrobianos, o nome do medicamento precisa ser anotado na solicitação.

**Observações:** Para pesquisa de Streptococcusagalactiae (grupo B) em gestantes, é aconselhável solicitação específica e de preferência realizar também o exame em material anal. A administração de antimicrobianos não impede a realização da cultura, mas, em algumas situações, pode interferir no resultado. Não receber amostras coletadas em swab seco e sem meio de transporte, além de amostras coletadas em pacientes em uso de cremes, pomadas ou óvulos vaginais.

**12.5 Armazenamento:** Temperatura ambiente (20 a 25°C) ou refrigerada (2 a 8°C).

**12.6 Estabilidade:** Material em meio de transporte (salina): Temperatura ambiente (20 a 25°C) até 2 horas ou em até 12 horas se refrigeradas (2 a 8°C). Swabs com meio de transporte até 12 horas em temperatura ambiente (20 a 25°C). Cultura para Neisseriagonorrhoeae devem ser encaminhadas em meio de transporte em até 1 hora após a coleta. Pesquisa de Trichomonasvaginalis deve ser encaminhada em salina em até 2 horas após a coleta. Mycoplasmahominis, Ureaplasmaurealyticum deve ser inoculado imediatamente em meio de transporte ou no próprio meio de cultura e transportado em até 24 horas refrigerado.

**12.7 Prazo para resultado:** 3 a 5 dias.





**12.8 Transporte:** Tubo com salina estéril, tubos com meio de transporte e lâminas de vidro. Todo material deve ser transportado em caixa térmica refrigerada, exceto a lâmina que deve ser transportada à temperatura ambiente.

**12.9 Valor de Referência:** Presença apenas de micro-organismos considerados microbiota normal.

**12.10 Prazo para recebimento:**

Recomendações para outros laboratórios: amostras coletadas por punção ou coletores estéreis, devem ser encaminhadas em até 2 horas a temperatura ambiente (20 a 25°C) ou refrigeradas por até 12 horas. Coletas em swabs com meio de transporte devem ser encaminhadas em até 12 horas em temperatura ambiente (20 a 25°C). Esfregaço em lâmina (até 24 horas à temperatura ambiente) e tubos com salina em até 12 horas se refrigeradas (2 a 8°C). *Trichomonas vaginalis* deve ser encaminhada em salina em até 2 horas após a coleta.

## **13 SECREÇÃO OCULAR**

***Cultura secreção ocular, secreção ocular direito, secreção ocular esquerdo, úlcera de córnea, secreção conjuntival, cultura do humor vítreo, raspado palpebral, secreção do canal lacrimal.***

**13.1 Aplicação:** *Existe uma diversidade de micro-organismos que podem causar infecções oculares (bactérias, fungos e vírus), assim o diagnóstico preciso depende do sítio da infecção e gravidade da lesão. Entre os micro-organismos isolados nas infecções oculares, destacamos: S. pneumoniae, S. aureus, H. influenzae, Enterobacteriaceae e Pseudomonas aeruginosa, entretanto, em recém-nascidos*

*ficar atento a pesquisa de *N .gonorrhoeae*. Usualmente, o *Staphylococcuscoagulase-negativo* e o *Corynebacterium*spp constituem a microbiota normal. Na suspeita de conjuntivite por *Chlamydia*trachomatis, é necessária uma solicitação específica, pois esse exame utiliza metodologia diferente de outros microorganismos.*

**13.2 Metodologia:** Cultura em meios apropriados para isolamento de micro-organismos causadores de infecções oculares.

### **13.3 Material:**

**a) Conjuntivite:** coletar 2swabs (exame direto e cultura). Evitar coletar secreção da parte externa do olho.

**b) Ceratite:** A coleta é realizada pelo oftalmologista e consiste em fazer um raspado na lesão da córnea com uma cureta oftalmológica e inocular diretamente nos meios de cultura (ágar sangue, ágar chocolate, podendo usar também Agar Sabouraud), além de confeccionar o esfregaço para exame direto (Gram).

**c) Blefarite** (inflamação nas pálpebras): coletar 2swabs (exame direto e cultura).

**d) Endofitalmite (humor vítreo):** A amostra é aspirada do fluido vítreo pelo oftalmologista. Transportar na seringa ou inocular diretamente em meio de cultura.

**e) Canaliculite (canal lacrimal):** coletar com swab fino (tipo o de coleta da secreção uretral) após compressão do canal lacrimal. Transportar em swab ou inocular diretamente em meio de cultura.

**13.4 Volume:** 2swabs (seco e com meio de transporte).

**13.5 Preparo do paciente:** Retirar o excesso de secreção com gaze estéril, colher a amostra com swab no saco conjuntival, evitando tocar com a pálpebra ou cílios. Evitar colher secreção acumulada nos cantos do olho. Recomendar ao paciente para não lavar o olho, utilizar maquiagem, colírios e medicamento tópico nas 6 horas que antecedem o exame. Caso esteja em uso prévio ou atual de algum antibiótico, informar no ato da coleta. A administração de antimicrobianos não impede a realização da cultura, mas, em algumas situações, pode interferir no resultado.

**Observações:** Nas infecções graves tipo ceratite, endofitalmite, é essencial a comunicação entre o clínico e o microbiologista para adequar coleta, transporte e processamento das amostras. Muitas das coletas são realizadas pelo médico oftalmologista durante o atendimento. Coletar o material sempre que possível durante a fase aguda da infecção e preferencialmente antes do uso do antibiótico. Na suspeita de conjuntivite por *Chlamydia*trachomatis, é necessária uma comunicação com o setor de microbiologia, pois é um exame que utiliza metodologia diferenciada.

**13.6 Armazenamento:** Temperatura ambiente

**13.7 Estabilidade:** Até 12 horas à temperatura ambiente (20 a 25°C)

**13.8 Prazo para resultado:** 3 a 5 dias.

**13.9 Transporte:** Todo material deve ser transportado em caixa térmica refrigerada, exceto a lâmina que deve ser transportada à temperatura ambiente.

**13.10 Valor de Referência:** Cultura negativa ou crescimento de pequena quantidade de microorganismos da microbiota normal do local.

**13.11 Prazo para recebimento:**

Recomendações para outros laboratórios: Enviar swabs em meio de transporte em até 12 horas a temperatura ambiente (20 a 25°C).

## **14.0 CULTURA OUVIDO INTERNO E EXTERNO**

***Cultura do ouvido, cultura do canal auditivo, cultura para aeróbios do ouvido.***

**14.1 Aplicação:** *A cultura do ouvido tem como objetivo o diagnóstico das otites médias e externas. Em recém-nascidos e crianças na idade escolar o tipo mais frequente é a otite média. Os micro-organismos mais comuns isolados nestes casos são: H. influenzae, S. pneumoniae e menos frequentemente M. catarrhakis, S. aureus e S. pyogenes. O diagnóstico normalmente é realizado através de procedimento mais invasivo, especialmente através da timpanocentese. A otite externa, é uma infecção que pode se apresentar na forma aguda e normalmente é adquirida em piscinas, banhos de mar ou rios, sendo a P. aeruginosa o agente mais isolado no laboratório. Já no tipo crônico além da P. aeruginosa, os anaeróbios aparecem com certa frequência. Amostras de tecidos e ossos deve-se pesquisar também fungos, Nocardiaspp e micobactérias.*

**14.2 Metodologia:** Cultura em meios adequados para isolamento de diversos micro-organismos.

**14.3 Material:**

**a) Otite externa:** Remover a secreção superficial em swab umedecido em solução fisiológica estéril e descartar. Com outro swab coletar o material fazendo rotação no canal auditivo e colocar em meio de transporte.

**B) Otite média:** Limpar o ouvido externo com antisséptico seguido de solução fisiológica estéril. A amostra deve ser obtida por aspiração do líquido dentro da tuba auditiva através do tímpano (timpanocentese). Enviar a amostra em tubo estéril ou na seringa com ponta bloqueada.

**14.4 Volume:** 01 swab com meio de transporte para cada cultura solicitada e uma lâmina para cada exame direto.

**14.5 Preparo do paciente:** Não utilizar medicamentos tópicos nas 6 horas que antecedem os exames. Não fazer uso de antibióticos nos 3 dias que antecedem a coleta. Remover a secreção com swab umedecido com solução fisiológica estéril e com outro swab coletar o material.

**Observações:** Anotar o medicamento em uso. Devido à presença de microbiota na parte externa, o resultado deve ser avaliado com critério.

**14.6 Armazenamento:** Temperatura ambiente (20 a 25°C) ou refrigerada (2 a 8°C).

**14.7 Estabilidade:** até 12 horas se refrigerada.

**14.8 Prazo para resultado:** 3 a 5 dias.

**14.9 Valor de referência:** Cultura negativa ou presença de micro-organismos habitualmente não patogênicos que fazem parte da microbiota local.

**14.10 Transporte:** Devem ser enviadas em meio de transporte (swab com stuart) e acondicionadas em caixa refrigeradas.

**14.11 Prazo para recebimento:**

Recomendações para outros laboratórios: Enviar amostras até 2 horas à temperatura ambiente (20 a 25°C) ou refrigerada (2 a 8°C) por 12 horas.

## **15.0 CULTURA DE VIGILÂNCIA**

***Cultura de vigilância, cultura para enterobactérias (KPC, NDM, metallo), Acinetobacterbaumannii MDR e P. aeruginosa MDR, cultura para VRE, cultura para MRSA.***

**15.1 Aplicação:** *Cultura utilizada para investigação de surtos epidemiológicos e detecção de pacientes colonizados com micro-organismos multidroga resistentes (P. aeruginosa, A. baumannii, Enterobactérias – MDR, MRSA e VRE), sendo de grande importância no controle de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS). Na investigação epidemiológica, fatores como coleta, processamento das amostras, identificação e detecção fenotípica de micro-organismos MDR, são etapas de grande valor. A detecção de micro-organismos MDR é de grande importância para o monitoramento da tendência de resistência e instituição de medidas de controle de infecção pelas equipes de CCIH. O swab nasal é igualmente utilizado para a detecção de portadores assintomáticos de S. aureus e, em ambiente hospitalar, para a identificação de portadores de S. aureus resistentes à oxacilina (MRSA).*

**15.2 Metodologia:** Cultura em meios e caldos adequados para isolamento de micro-organismos MDR.

### **15.3 Material:**

**a) Swab oral:** Esfregar o swab na área a ser analisada (orofaringe e laterais da cavidade oral), girando-o sobre seu próprio eixo de modo a recolher material em toda a sua superfície. • Introduzir o swab no tubo contendo meio de transporte (Stuart)

**b) Swabaxilar :** Coletar antes da higiene diária do paciente. • Utilizar swab com meio de transporte. Umedecer o swab em salina fisiológica estéril ou água destilada. Levantar o antebraço do paciente de modo a expor a axila. Passar o swab em toda a axila, girando-o sobre seu próprio eixo. Utilizando o mesmo swab, realizar o mesmo procedimento na outra axila. Introduzir o swab no tubo contendo meio de transporte (Stuart).

**c) Swab inguinal:** Coletar antes da higiene diária do paciente. Umedecer o swab em salina fisiológica estéril ou água destilada. Passar o swab na virilha esquerda ou direita, girando-o sobre seu próprio eixo. Utilizando o mesmo swab, realizar o mesmo procedimento na outra virilha. Introduzir o swab no tubo contendo meio de transporte (Stuart).

**d) Swab retal:** Coletar o material retal, introduzindo o mesmo 4 a 6 cm e realizando movimentos giratórios (girar o swab sobre seu eixo). Uma vez introduzido dar duas voltas completas e a seguir retirar.

• Introduzir o swab no meio de transporte. • Retirar a luva. Introduzir o swab no tubo contendo meio de transporte (Stuart).

**e) Fezes:** Introduzir a extremidade do swab nas fezes, a seguir introduzi-lo no meio de transporte (Stuart).

**f) Swabnasal :** Introduzir o swab estéril na narina, até que seja encontrada resistência. Rodar o swab contra a mucosa nasal. Colher de ambos as narinas ou conforme solicitação. Caso a narina esta ressecada, umedecer o swab com salina estéril antes da coleta. Introduzir o swab no tubo contendo meio de transporte (Stuart) .

**15.4 Volume:** 01 swab com meio de transporte para cada sítio solicitado.

**15.5 Preparo do paciente:** Não utilizar medicamentos tópicos nas 6 horas que antecedem os exames. Não tomar banho antes da coleta. Não utilizar antissépticos orais antes da coleta.

**Observações:** O sítio de coleta e os micro-organismos a serem pesquisados devem ser indicados por cada serviço solicitante. É necessário umedecer o swab em salina estéril antes de coletar a amostra axilar ou inguinal. O uso de swabs não umedecidos em superfícies secas reduz a sensibilidade do teste. Devido à presença de microbiota na parte externa, o resultado deve ser avaliado com critério. Trata-se de uma cultura para detecção do estado de portador do paciente (não é uma cultura clínica, não sendo necessário realizar antibiograma completo). A administração de antimicrobianos não impede a realização da cultura, mas, em algumas situações, pode interferir no resultado.

**15.6 Armazenamento:** Temperatura ambiente (20 a 25°C) ou refrigerada (2 a 8°C).

**15.7 Estabilidade:** até 24 horas se refrigerada (2 a 8°C) e em meio de transporte.

**15.8 Prazo para resultado:** 3 a 5 dias.

**15.9 Valor de referência:** Ausência de micro-organismo MDR.

**15.10 Transporte:** Devem ser enviadas em meio de transporte (swab com stuart) e acondicionadas em caixa refrigerada (2 a 8°C).

**15.11 Prazo para recebimento:**

Recomendações para outros laboratórios: Enviar amostras até 2 horas à temperatura ambiente (20 a 25°C) ou refrigerada (2 a 8°C) por 24 horas.

## ***16 PESQUISA DE FUNGOS***

***Pesquisa de fungos, micológico direto, Pesquisa de pseudo-hifas, pesquisa de leveduras.***

**16.1 Aplicação:** Exame realizado para diagnóstico de micoses superficiais, cutâneas, subcutâneas e profundas de amostras diversas. Nas lesões características de micoses superficiais, são pesquisados os dermatófitos e outros fungos isolados nas dermatofitoses, além das leveduras. As micoses cutâneas, subcutâneas e sistêmicas, a pesquisa é direcionada para pesquisa de diferentes fungos, de acordo com o sítio da coleta. O resultado da pesquisa negativo, não exclui a infecção por fungos e a necessidade da realização da cultura, que apresenta maior sensibilidade que a pesquisa direta.

**16.2 Metodologia:** Exame microscópico direto após tratamento do material clínico e/ou após coloração.

**16.3 Material:** Esse exame pode ser realizado em diferentes materiais clínicos, tais como pele, pelo (couro cabeludo), unhas, secreção genital, secreções, biópsias materiais do trato respiratório e urina, entre outros.

**a) Pele:** Limpar o local a ser coletado com álcool a 70%, água estéril ou soro fisiológico. Realizar o raspado com lâmina de vidro (lâmina de microscopia). Colher o máximo de fragmentos de tecido epidérmico dos bordos das lesões. Colocar o material em placa de Petri descartável (60x15), identificar, vedar com fita crepe e armazenar a temperatura ambiente até o momento de envio para o laboratório. Em caso de lesões com pontos de pus, limpar com soro fisiológico e coletar com swab seco, acondicionar o material em tubo com soro fisiológico estéril (1 a 2 mL) e refrigerar até momento do envio. Quando a lesão é do tipo vesiculosa, colher o teto da vesícula com swab, após escarificação com agulha descartável. Se possível, colher um raspado, caso seja observado descamação. A coleta de lesões (manchas) hiper ou hipopigmentadas, tipo "pano branco", que não descamam coletar utilizando fita adesiva transparente (colar na lesão e escarificar com a unha), em seguida colar a fita durex na lamina de vidro e enviar para o laboratório (o material coletado não serve para cultura, apenas para exame direto). Anotar na solicitação o local da coleta e a descrição do material.

**b) Pêlo (couro cabeludo):** Limpar o local a ser coletado com álcool a 70%, água estéril ou soro fisiológico. Realizar raspado nas bordas da lesão se houver zona de alopecia, bem como retirar fios de cabelo com auxílio de uma pinça (bordas da lesão). Colocar o material em placa de Petri descartável (60x15), identificar, vedar com fita crepe e armazenar a temperatura ambiente até o momento de envio para o laboratório. Pacientes com reações inflamatórias presente (tinha fávica), realizar limpeza com soro fisiológico, esperar secar e em seguida coletar com swab. Acondicionar o material em tubo com soro fisiológico estéril (1 a 2 mL) e refrigerar até momento do envio. Anotar na solicitação o local da coleta e a descrição do material.

**c) Unha:** Fazer antissepsia suave do local com álcool a 70%. Retirar esmalte 2 horas antes da coleta e lavar com água e sabão (não realizar coleta com unhas pintadas). Se a unha apresentar partes frágeis,

descoloridas ou distróficas, raspar esses locais com o auxílio de cureta "odontológica". Unhas com lesões subungueais coletar embaixo da unha com uma cureta "odontológica" (no limite entre a unha íntegra e a lesão, se necessário cortar a unha apenas para atingir o local da lesão). Colocar o material obtido em placa de Petri descartável 60x15 identificar, vedar com fita crepe e armazenar a temperatura ambiente até o momento de envio para o laboratório. Unhas com lesões inflamatórias, fazer assepsia com soro fisiológico, enxugar com gaze e coletar com swab, acondicionar o material em tubo com soro fisiológico estéril (1 a 2 mL) e refrigerar até momento do envio. Colher sempre o máximo possível de material. Anotar na solicitação o local da coleta e a descrição do material.

**d) Urina:** Colher urina jato médio ou conforme solicitação médica em frasco estéril. Volume mínimo recomendado de 5mL. Enviar em temperatura ambiente (20 a 25°C) até 2 horas ou refrigerado (2 a 8°C) até 24 horas.

**e) Escarro, Lavado Brônquico, Líquidos corporais, secreções:** Colher a amostra em coletores estéreis e secos. Anotar na solicitação o local da coleta e a descrição do material. Enviar em temperatura ambiente (20 a 25°C) até 2 horas ou refrigerado (2 a 8°C) até 24 horas.

**f) Fragmentos de biópsias ou autópsias:** Acondicionar em frascos estéreis com solução fisiológica estéril em volume suficiente para cobrir todo o fragmento. Enviar em temperatura ambiente (20 a 25°C) até 2 horas ou refrigerado (2 a 8°C) até 24 horas.

**g) Medula óssea:** Preparar esfregaços do material em uma lâmina lisa e limpa. Esperar a lâmina secar e colocar em frasco porta-lâminas e enviar ao laboratório em temperatura ambiente (20 a 25°C).

**h) Secreções:** Colher com swab a secreção da região afetada e colocar em um tubo contendo salina estéril (material suficiente para turvar o meio). Enviar em temperatura ambiente (20 a 25°C) até 2 horas ou refrigerado (2 a 8°C) até 24 horas.

**16.3 Volume:** Material obtido das regiões coletadas em quantidade suficiente para exame direto e cultura.

**16.4 Preparo do paciente:** Para coleta de raspado de pele, pêlo, unha, couro cabeludo, a coleta deve ser realizada preferencialmente no laboratório. Coletar a amostra antes da introdução do antifúngico ou em caso de uso de medicamento suspender com orientação médica, antes da coleta. Não usar esmalte, pomadas e hidratantes.

**Observações:** Não utilizar medicamentos tópicos na semana que antecede os exames. Não utilizar antissépticos orais antes da coleta. Antifúngicos orais devem ser suspensos 15 dias antes da coleta a critério médico, caso não seja possível, informar o medicamento em uso. A administração de antifúngicos não impede a realização do exame, mas, em algumas situações, pode interferir no resultado.

**16.5 Armazenamento:** Temperatura ambiente ou refrigerada.





**16.6 Estabilidade:** Amostras de raspados de lesões secas – encaminhar em placas de Petri descartável (60x15) em até 24 horas a temperatura ambiente (20 a 25°C). Material em meio de transporte (salina) - Temperatura ambiente (20 a 25°C) até 2 horas ou em até 24 horas se refrigeradas (2 a 8°C). Material em swab deve ser descarregado em tubo com salina - Temperatura ambiente (20 a 25°C) até 2 horas ou em até 24 horas se refrigeradas (2 a 8°C).

**16.7 Prazo para resultado:** 72 horas.

**16.8 Valor de Referência:** Pesquisa negativa.

**16.9 Transporte:** tubos com salina, placa de Petri descartável, swab com meio de transporte, acondicionado à temperatura ambiente ou refrigerado em caixa apropriada para transporte.

**16.10 Prazo para recebimento:**

Recomendações para outros laboratórios: amostras coletadas em swab (secreção purulenta) devem ser enviadas em tubo com salina estéril ou água destilada estéril. Enviar em até 8 horas refrigerada (2 a 8°C) ou 2 horas na temperatura ambiente (20 a 25°C). Raspados de pelo (couro cabeludo), pele e unhas (lesões secas), enviar em placa de Petri em até 24 horas após a coleta em temperatura ambiente.

## **17 TINTA DA CHINA**

***Tinta da China, pesquisa de Cryptococcus spp.***

**17.1 Aplicação:** Este exame é útil no diagnóstico etiológico das meningites fúngicas causadas por *Cryptococcus* spp. O líquido é uma amostra nobre de difícil obtenção, recomenda-se que haja rigor especial em todas as fases de um procedimento associado a esse material.

**17.2 Metodologia:** Pesquisa direta para pesquisa de *Cryptococcus* spp. em amostras clínicas (LCR e amostra do trato respiratório inferior).

**17.3 Material:** Coletar em tubo seco estéril, sem anticoagulante, sem aditivo e sem gel.

**17.4 Líquido cefarraquidiano:** Coleta realizada por equipe médica especializada, através de punção. Enviar em tubo ou coletor estéril e seco.

**17.5 Volume:** 1 a 2 mL.

**17.6 Preparo do paciente:** Fatores desse processo, como a técnica de coleta, temperatura, tempo de transporte e de estocagem e as condições do preparo da amostra, necessitam de padronização para evitar resultados equivocados que possam comprometer o diagnóstico e a conduta médica. O volume de LCR a ser coletado deve ser cuidadosamente avaliado com base nas análises que serão necessárias de acordo com a hipótese diagnóstica. A coleta é realizada pela equipe médica especializada.

**Observações:** Sempre que possível colher antes da antibioticoterapia. Nas meningites por *Cryptococcus neoformans*, o teste apresenta sensibilidade de 91%, razão pela qual a cultura para fungos deve ser solicitada de forma concomitante e rotineira.

**17.7 Armazenamento:** Refrigerada (2 a 8°C).

**17.8 Estabilidade:** Refrigerado (2 a 8°C) por 24 horas.

**17.9 Prazo para resultado:** 24- 48 horas.

**17.10 Transporte:** Devem ser transportadas acondicionadas em caixas térmicas sob refrigeração (2 a 8°C).

**17.11 Valor de Referência:** Pesquisa negativa.

## **18 GRAM**

## **Gram, bacterioscopia**

**18.1 Aplicação:** Exame direto utilizando a coloração pelo método de Gram para avaliação das características morfo-tintórias dos micro-organismos presentes em infecções bacterianas diversas.

**18.2 Metodologia:** Exame direto realizado em amostras clínicas para avaliação da presença de células e micro-organismos (bactérias e fungos), visando um diagnóstico presuntivo.

**18.3 Material:** amostras devem ser enviadas em coletor estéril sob refrigeração ou realizar esfregaço e enviar a lâmina pronta, após secagem e se possível fixação (calor) em caixa porta-lâminas em temperatura ambiente (20 a 25°C).

**a) Urina:** enviar em coletor estéril refrigerada ou realizar o esfregaço. · Urina do segundo jato (jato médio) não centrifugada: apenas homogeneizada, utilizar uma alça de 10uL e depositar no centro de uma lamina de vidro, deixar secar. · Urina de primeiro jato (infecção baixa - uretrite): deve ser feita da urina centrifugada a fim de aumentar a sensibilidade. Amostra coletada para pacientes com suspeita de uretrite bacteriana, que não apresentam secreção.

**b) Líquidos orgânicos (pleural, sinovial, ascítico, peritoneal, pericárdico) aspirados, curetagens, raspados, exsudatos, tecidos e fragmentos ósseos:** · Amostras purulentas devem ser processadas sem centrifugação, confeccionando um esfregaço no centro da lâmina (não espesso). · Amostras não purulentas, confeccionar o esfregaço após centrifugação com o sedimento.

**c) Secreções genitais** (pesquisa de *G. vaginalis*, *N. gonorrhoeae*, *Candida spp.*)

**d)** Realizar o esfregaço em lâmina de vidro, com movimentos suaves, utilizando o swab no momento da coleta (se possível fazer 2 esfregaços). Secar e fixar pelo calor (na estufa ou passar rapidamente na chama 3 vezes).

**e) Amostra do trato respiratório** (escarro, secreção traqueal, LBA)

**f)** Enviar em coletor seco e estéril ou confeccionar dois esfregaços em lâmina de vidro, tendo o cuidado em pegar pontos purulentos da amostra. (na estufa ou passar rapidamente na chama 3 vezes).

**g) Secreção ocular, ouvido:** · Realizar o esfregaço em lâmina de vidro, com movimentos suaves, utilizando o swab no momento da coleta (se possível fazer 2 esfregaços).

**18.4 Volume:** 1 a 2 mL em coletor estéril ou 2 lâminas com esfregaços.

**18.5 Preparo do paciente:** O paciente não pode utilizar medicamento tópico nas últimas 12 horas.



**Observações:** Sempre que possível colher antes da antibioticoterapia. Coletar as amostras após assepsia com soro fisiológico ou álcool a 70%.

**18.6 Armazenamento:** Temperatura ambiente (20 a 25°C).

**18.7 Estabilidade:** Temperatura ambiente (20 a 25°C) por 24 horas.

**18.8 Prazo para resultado:** 24 a 48 horas.

**18.9 Transporte:** Devem ser transportadas acondicionadas em caixas térmicas a temperatura ambiente (20 a 25°C) seguindo recomendações específicas para cada tipo de amostra.

**18.10 Valor de Referência:** Presença de micro-organismos da microbiota normal do local e/ou ausência de micro-organismos corados pelo Gram.

**18.11 Prazo para recebimento:**

Recomendações para outros laboratórios: Identificar a amostra e enviar ao Laboratório em até 24 horas à temperatura ambiente (20 a 25°C) em caso de lâminas prontas ou refrigerar a amostra por até 24 horas (coletor).

## **19 BAAR**

***Ziehl, baciloscopia, pesquisa de micobactérias, pesquisa de bacilo de Koch.***

**19.1 Aplicação:** Exame direto utilizando a coloração pelo método de Ziehl-Neelsen para diagnóstico preliminar das infecções causadas pelos bacilos álcool-ácido resistentes. Exame é útil no diagnóstico da tuberculose pulmonar e de outras micobacterioses. As maiores vantagens do método são a rapidez de execução e o alto valor preditivo positivo. Um resultado negativo, porém, não exclui a possibilidade de doença.

**19.2 Metodologia:** Exame microscópico direto do material clínico (amostras diversas) após coloração pelo método de Ziehl-Neelsen, para diagnóstico preliminar das infecções por Micobactérias.

**19.3 Material:** amostras devem ser enviadas em coletor estéril refrigerada ou realizar esfregaço (seco e fixado pelo calor) e enviar em caixa porta-lâminas em temperatura ambiente.

**a) Urina:** Utilizar a urina total coletada no primeiro horário da manhã em 3 dias consecutivos.

**b) Líquidos orgânicos (pleural, sinovial, ascítico, peritoneal, pericárdico) aspirados, exsudatos, tecidos, secreções de gânglios e fragmentos ósseos.** Amostras purulentas devem ser processadas sem centrifugação, confeccionando um esfregaço no centro da lâmina (não espesso), deixar secar e fixar. Amostras não purulentas, confeccionar o esfregaço após centrifugação com o sedimento.

**c) Amostra do trato respiratório (escarro, secreção traqueal, LBA):** Enviar em coletor seco e estéril ou confeccionar dois esfregaços em lâmina de vidro, tendo o cuidado em pegar pontos purulentos da amostra.

**d) Lavado gástrico:** Amostra coletada por equipe especializada e enviada em coletor estéril seco.

**e) Biópsias e fragmentos de tecido:** Colher em coletor estéril descartável, em salina fisiológica estéril. Enviar refrigerada.

**19.4 Volume:** 5 a 10 mL secreção do trato respiratório inferior; 1 a 2 mL em casos de secreções acondicionada em coletor estéril ou 2 lâminas com esfregaços (secos e fixados).

**19.5 Preparo do paciente:** O paciente deve ser orientado para coletar o escarro após higiene bucal e procurar coletar amostra de tosse profunda (evitar coletar apenas saliva), outras amostras do trato inferior geralmente são coletadas pela equipe médica e enviadas em coletor estéril e seco. Secreções



diversas são coletadas por aspiração ou com swab (neste caso de preferência realizar os esfregaços no momento da coleta), secar, fixar e enviar.

**Observações:** Escarro obtido por expectoração profunda (tosse diafragmática). Amostras de escarro colhidas durante 24 horas são desnecessárias e inadequadas ao exame. No caso de uso prévio ou atual de antimicrobianos, deve ser informado o nome do medicamento. A administração de antimicrobianos não impede a realização da cultura, mas, em algumas situações, pode interferir no resultado. Um resultado negativo, porém, não exclui a possibilidade de doença.

**19.6 Armazenamento:** Temperatura ambiente (20 a 25°C) por 2 horas ou refrigerar por até 24 horas.

**19.7 Estabilidade:** Até 24 horas se refrigerada (2 a 8°C).

**19.8 Prazo para resultado:** 24 a 48 horas.

**19.9 Transporte:** Esfregaços prontos: Devem ser transportadas acondicionadas em caixas térmicas a temperatura ambiente (20 a 25°C). Amostras diversas: refrigeradas (2 a 8°C).

**19.10 Valor de Referência:** Pesquisa negativa ou ausência de bacilos álcool-ácido resistentes na amostra examinada.

**19.11 Prazo para recebimento:**

Recomendações para outros laboratórios: Identificar a amostra e enviar ao Laboratório em até 24 horas ambiente (20 a 25°C) em caso de lâminas prontas ou refrigerar a amostra por até 24 horas (coletor)