

**M.A.P.A. – Microbiologia Clínica****Módulo 53/2025****Nome:** Suháila Orba Abib**R.A.:** 23260509-5**Disciplina:** Microbiologia Clínica**INSTRUÇÕES PARA REALIZAÇÃO DA ATIVIDADE**

**2. Todos os campos acima (cabeçalho) deverão ser devidamente preenchidos.**

3. O(A) aluno(a) deverá utilizar este modelo padrão para realizar a atividade.

4. Esta atividade deverá ser realizada individualmente. Caso identificada cópia indevida de colegas, as atividades de ambos serão zeradas. Também serão zeradas atividades que contiverem partes de cópias da Internet ou livros sem as devidas referências e citações de forma correta.

5. Para realizar esta atividade, leia atentamente as orientações e atente-se ao comando da questão. Procure argumentar de forma clara e objetiva, de acordo com o conteúdo da disciplina. Certifique-se que tenha assistido aos vídeos de apoio disponíveis na sala do café.

Link do vídeo: <https://www.youtube.com/watch?v=ZsYrkqdUz8A>

6. Neste arquivo resposta, coloque apenas as respostas identificadas de acordo com as questões.

7. Após terminar o seu arquivo resposta, salve o documento em PDF e o nomeie identificando a disciplina correspondente, para evitar que envie o MAPA na disciplina errada. Envie o arquivo resposta na página da atividade MAPA, na região inferior no espaço destinado ao envio das atividades.

**FORMATAÇÃO EXIGIDA**

**2. O documento deverá ser salvo no formato PDF (.pdf).**

3. Tamanho da fonte: 12
4. Cor: Automático/Preto.
5. Tipo de letra: Arial.
6. Alinhamento: Justificado.
7. Espaçamento entre linhas de 1.5.
8. Arquivo Único.

## ATENÇÃO

### VALOR DA ATIVIDADE: 3.5

Esta atividade deve ser realizada utilizando o formulário abaixo. Apague as informações que estão escritas em vermelho, pois são apenas demonstrações e instruções para te auxiliar, e, posteriormente, preencha todos os campos com suas palavras/imagens. **Coloque as referências utilizadas nas normas da ABNT**

## IMPORTANTE:

### CONTEXTUALIZAÇÃO

“[...] A grande variedade de patógenos e métodos de teste disponíveis torna os testes microbiológicos desafiadores e, portanto, a detecção e a correção de erros são componentes importantes dos testes de laboratório de microbiologia de qualidade [...]. Os microbiologistas clínicos devem ser especialistas em todos os aspectos das fases pré-analítica, analítica e pós-analítica dos testes microbiológicos. Devemos educar os clínicos sobre os aspectos críticos da seleção de testes, coleta e transporte de amostras e interpretação de resultados que ocorrem fora do laboratório”.

**Fonte:** Science Direct. *Enciclopédia de Microbiologia: Microbiologia Clínica*, 4ª ed., 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/topics/immunology-and-microbiology/clinical-microbiology>. Acesso em: 03/06/2025.

A integração do conhecimento teórico com a prática é fundamental para capacitação do profissional, trazendo agilidade e assertividade nos resultados. Esta atividade traz, através de um estudo de caso, questões que visam alinhar os



conhecimentos teóricos com os práticos através de problemáticas que são frequentes na rotina do microbiologista clínico.

## **ESTUDO DE CASO**

Imagine que você é um microbiologista em um laboratório de análises clínicas de um hospital e, na sua rotina de trabalho, recebe diariamente diversas amostras biológicas. Essas amostras são provenientes tanto dos setores de internação, quanto de atendimentos ambulatoriais ou de emergência.

Sua função é executar os procedimentos técnicos, avaliar os controles de qualidade e treinar os funcionários que trabalham no setor.

Iniciando sua rotina de trabalho, enquanto avaliava o controle de qualidade semanal, você identificou alguns problemas que interferem diretamente no andamento das análises, mas que com ajustes básicos e orientações ou treinamentos da equipe técnica, podem ser resolvidos. Diante disso, para capacitar e atualizar os técnicos do setor, você elaborou um guia teórico com as orientações necessárias.

### **ETAPA 1: Análise de erros pré-analíticos**

Você identificou problemas na coleta e semeadura de amostras. Isso impacta negativamente no isolamento de colônias, atrasando a identificação dos microrganismos e no tratamento dos pacientes.

#### **Questão 1:**

A escolha do tipo de semeadura é essencial para garantir o isolamento, a interpretação das culturas e execução dos testes. Essas técnicas podem ser divididas em semeaduras qualitativas, utilizadas quando se busca detectar a presença de patógenos, independentemente da quantidade; e quantitativas, usadas quando é importante saber a quantidade de bactérias por volume de amostra. Desta forma,

#### **RESPONDA:**

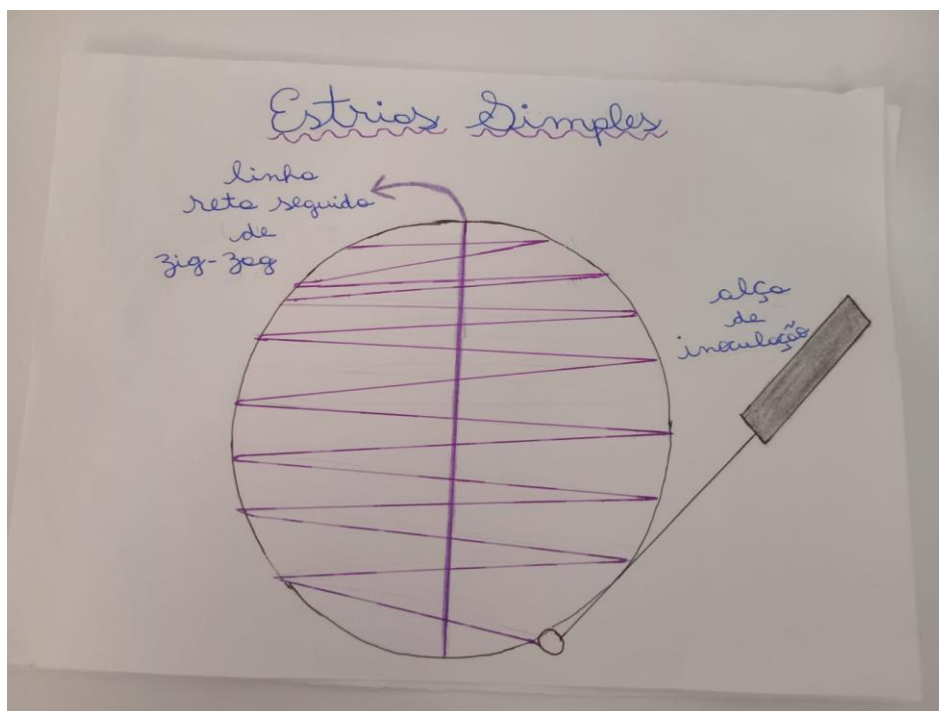
a. **DESCREVA** e **ILUSTRE** manualmente as técnicas de semeadura qualitativa por estrias em meios sólidos, tanto em tubos, quanto em placas:

### **Técnicas de Semeadura**

## Semeadura por estrias em placas de Petri

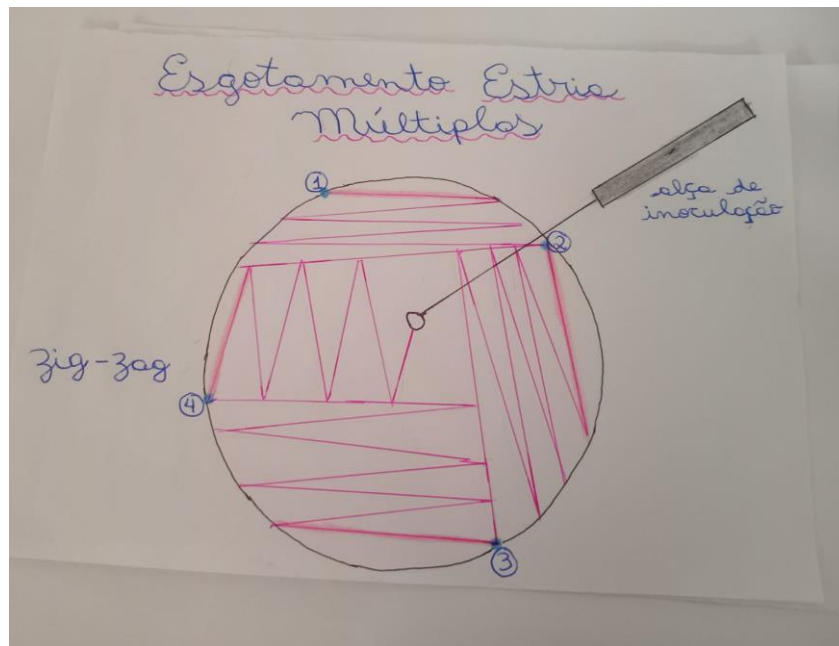
- Técnica por estrias simples (zigue-zague):

Esterilizar e resfriar a alça, coletar do inóculo, fazer uma estria em zigue-zague contínuo sobre a superfície da placa, fechar a placa e incubar.



- Técnica por estrias em setores (método de quadrantes):

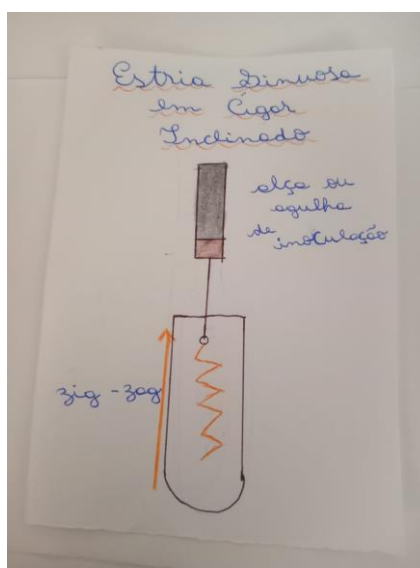
Dividir a placa mentalmente em 3 ou 4 quadrantes, após esterilizar e resfriar a alça, inócupe o 1º quadrante com o inóculo original, esterilizar a alça, resfrie e puxe parte da estria do 1º para o 2º quadrante, repetir para o 3º e 4º quadrantes, com esterilização entre cada um, incube a placa de cabeça para baixo.



### Semeadura por estrias em tubos de ágar inclinado

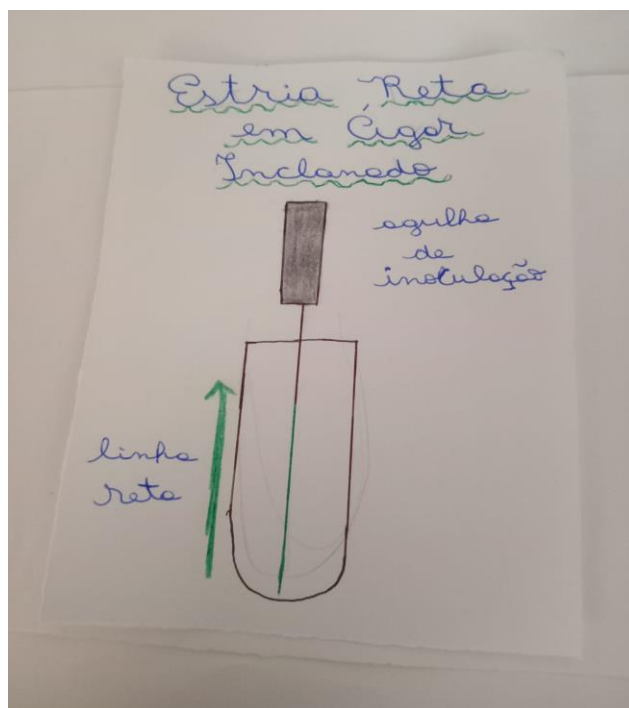
- Técnica por estria sinuosa:

Esterilizar a alça de platina no fogo, resfriar e tocar em uma colônia ou amostra líquida, abrir o tubo próximo ao bico de bunsen, iniciar a estria na base do tubo e fazer zigue-zague até a superfície do meio, em movimento contínuo e suave, fechar o tubo e incubar.



- Técnica por estria reta:

Esterilizar a agulha de platina no fogo, resfriar e tocar em uma colônia ou amostra líquida, abrir o tubo próximo ao bico de bunsen, iniciar a estria na base do tubo e deslizar a agulha até o topo do meio, em movimento contínuo e suave, fechar o tubo e incubar.



b. A contagem de colônias é essencial para a classificação entre infecção e contaminação. A técnica de semeadura quantitativa é aplicada também a outros tipos de materiais clínicos. **CITE**, ao menos três amostras que devem ser semeadas desta forma e **DESCREVA** como o procedimento é feito, da semeadura até a contagem das colônias.

Algumas amostras são: urina, secreção traqueal ou aspirado traqueal e pus de feridas ou secreção de lesões cutâneas.



O procedimento da semeadura a contagem das colônias segue-se da seguinte forma: primeiramente com a alça calibrada de volume 0,01 ml quando esperadas contagens superiores a 100 UFC/mL de amostra; depois pega-se um placa de Petri com o ágar nutritivo e específico para cada amostra (como CLED, Chocolate, MacConkey) e passar suavemente a alça sobre a placa em forma de com uma linha vertical central e espalhar em zigue-zague na horizontal de ponta a ponta por toda placa. Após deve ser levada a uma estufa bacteriológica a 37° C por 24 horas, passando essas 24 horas as colônias devem ser contadas, esse número é multiplicado pelo inverso do volume da alça calibrada para determinar o valor de unidades formadoras de colônia.

### **Questão 2:**

A coleta é um ponto crucial, que pode inviabilizar completamente a análise dos materiais, causando gastos desnecessários e retrabalho. Além disso, o paciente terá que voltar ao laboratório ou será submetido a novo procedimento invasivo para a recoleta. Nos seus relatórios de pedido de recoleta por amostras inadequadas, a hemocultura tem sido a mais frequente, evidenciando uma dificuldade nos técnicos durante a coleta. Sendo assim, **ELABORE** um Procedimento Operacional Padrão (POP) sobre a coleta de hemocultura, abordando os tópicos abaixo:

- a. Número de amostras e intervalo de tempo entre as punções.
- b. Volume de sangue e locais de punção.
- c. Procedimento de coleta.
- d. Coleta de hemoculturas para diagnóstico de infecção relacionada a cateter vascular.

### **Coleta de Amostras de Sangue para Exame de Hemocultura**

#### Objetivo

Padronizar a técnica de coleta de sangue para hemocultura, assegurando a qualidade da amostra, reduzindo riscos de contaminação e otimizando o diagnóstico microbiológico de infecções sistêmicas, incluindo infecções relacionadas a cateter vascular.



## Orientação

Não se recomenda a troca de agulhas entre a coleta e a distribuição do sangue nos frascos específicos.

## Materiais

- Frasco de hemocultura.
- Antissépticos: álcool 70% e clorexidina alcoólica ou PVP-I.
- Algodão ou gaze.
- Luvas de procedimento.
- Agulha e seringa (ou conjunto de escalpe e dispositivo de coleta a vácuo).
- Garrote.
- Etiqueta de identificação.

Observação: não há necessidade de uso de máscara, exceto se indicado para paciente em isolamento.

## POP

O número de amostras e volume de sangue se diferenciam para cada faixa etária:

- Adultos: 2 a 4 amostras e o volume de 5 a 10 mL de sangue por frasco (total de até 40 mL em 2 a 4 frascos).
- Crianças: 1 a 2 amostras e o volume de 1 a 4 mL por frasco, respeitando o volume total de acordo com o peso e idade da criança.

O intervalo de tempo de uma coleta a outra é de 30 minutos, para aumentar a sensibilidade na detecção da bactéria.



Os locais para punção, a cada colhida deve ser em diferentes sítios de punção, preferencialmente em veias periféricas dos membros superiores.

### Procedimentos

- 1) Lavar as mãos com água e sabão.
- 2) Preparar o material, dispor a etiqueta de identificação no frasco, anotando o nome do paciente, leito, data, hora e local de coleta (sítio anatômico), imediatamente ao procedimento.
- 3) Limpar a tampa de borracha com algodão embebido em álcool 70%. Manter o algodão sobre o frasco até o momento da punção ou proceder conforme as instruções do fabricante.
- 4) Escolher o melhor local de punção para a coleta de sangue. Colocando o garrote e apalpando livremente as veias do paciente para escolher a mais calibrosa e menos móvel. Soltar o garrote.
- 5) Fazer a antisepsia com clorexidine alcoólico 0,5%, friccionando a pele em círculos semiabertos a partir do ponto a ser puncionado. Secar por 30 segundos. Em seguida, aplicar novamente clorexidine alcoólico 0,5% utilizando novo algodão ou gaze. Esperar cerca de 30 segundos para secar, repetir o procedimento por mais uma vez e aguardar secar.
- 6) Colocar novamente o garrote e puncionar a veia com agulha e seringa ou dispositivo para coleta a vácuo, sem tocar diretamente no local de punção.

7) Coletar de 5 a 10ml de sangue (adultos) ou de 1 a 4ml de sangue (crianças) para cada frasco.

8) Ao retirar a agulha, fazer compressão local com algodão seco, sem flexionar o braço.

9) Transferir a amostra para os frascos de hemocultura, colocando primeiramente o sangue no frasco ANAERÓBIO (sem troca de agulhas). Se a coleta for realizada com escalpe e adaptador próprio (sistema de coleta fechado a vácuo), inocular primeiro o frasco AERÓBIO. Importante lembrar que, nesse caso, os frascos de hemocultura devem permanecer em pé durante toda a etapa de coleta, para evitar refluxo para a veia do paciente.

Obs.: o volume correto observando a guia de marcação na etiqueta do próprio frasco, já que a maioria deles não tem volumes de aspiração a vácuo calibrados. Utilizar um conjunto de seringa – agulha ou dispositivo próprio de coleta a vácuo para cada punção/amostra.


10) Dispensar o material de punção em local apropriado (caixa de perfuro cortante).

11) Lavar as mãos.

#### Procedimento para coleta de cateter vascular

1) Lavar as mãos e calçar luvas de procedimentos.

2) A pele ao redor do cateter deve ser cuidadosamente desinfetada com solução iodada ou de clorexidina. Após a secagem da solução sobre a pele (cerca de 30



segundos a 1 minuto), o cateter é removido cuidadosamente. O excesso de antisséptico sobre a pele pode ser removido, ao final, com álcool 70%.

3) O segmento distal (que estava inserido na veia do paciente), de aproximadamente 5 cm, é assepticamente cortado com auxílio de tesoura estéril, colocado em um frasco estéril seco, e remetido em um prazo mínimo (1 hora) ao laboratório.

4) Para cateteres de longa permanência com infecção do tecido subcutâneo associada, coletar a parte do cateter do segmento transcutâneo ou swab do local e a porção distal. Colocar em frascos distintos com a identificação da parte do segmento colhido.

Obs.: Não é necessário descartar o volume inicial de sangue ou lavar o acesso com salina para eliminar heparina ou outros anticoagulantes, pois a alta concentração proteica dos meios de cultura normalmente neutraliza o efeito antimicrobiano eventual do anticoagulante.

## **ETAPA 2: Análise de erros analíticos**

Você recebeu algumas reclamações da equipe médica do hospital, que diziam não estar obtendo sucesso na antibioticoterapia dos pacientes, mesmo seguindo os resultados dos antibiogramas. Na análise dos problemas demonstrados no seu controle de qualidade, você também percebeu que a leitura e interpretação dos halos de inibição do antibiograma por disco-difusão estava incompatível com os resultados esperados, indicando possíveis falhas na padronização do método. Além desse problema, os testes de controle de qualidade realizados em alguns meios de cultura diferenciais não apresentavam resultados satisfatórios em relação ao crescimento microbiológico e mudanças de cor. Depois de várias tentativas de ajustes para melhoria disso, foi decidida a troca da marca dos meios, ficando a seu critério o estudo das bulas dos produtos novos. Então, **RESPONDA:**



### Questão 3:

O controle de variáveis físico-químicas dos ágar e do inóculo bacteriano, é fundamental para garantir a precisão, reprodutibilidade e confiabilidade dos resultados do antibiograma por disco-difusão. Sendo assim, **EXPLIQUE** quais são as variáveis do ágar Mueller-Hinton e da concentração do inóculo bacteriano que podem interferir no resultado do antibiograma por disco-difusão e porque isso acontece.

As variáveis do ágar Mueller-Hinton são:

- A espessura do meio que normal é 4mm (aproximadamente 25 mL por placa de 90 mm), pode ter uma interferência se o meio for muito fino ou muito espesso, alterando o tempo de crescimento das zonas de inibição.
- O pH do ágar por padrão deve estar 7,2 e 7,4 a 25° C, se não o pH estiver fora deste valor pode afetar a atividade, crescimento e viabilidade das bactérias, afetando o resultando.
- A composição nutricional deve estar com a formação padronizada, se não pode ter excesso de timidina, que pode inibir a ação dos antibióticos, levando a falsos resistente.
- A umidade na superfície da placa favorece a difusão irregular e crescimento desigual, dificultando a leitura das zonas de inibição.

As variáveis do Inóculo Bacteriano são:

- A densidade do inóculo por padrão deve ser equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland ( $\sim 1,5 \times 10^8$  UFC/mL), se os inóculos forem diferentes deste valor, sendo mais concentrado ou muito diluído vai resultar em zonas de inibição incorretas.



- A uniformidade na semeadura precisa ser feita, se a distribuição do inóculo não for homogênea, as zonas de inibição podem ser irregulares ou imprecisas.

É fundamental seguir esses fatores para garantir a padronização, reprodutibilidade e confiabilidade dos resultados do antibiograma por disco-difusão, qualquer variação pode levar a falhas de interpretação da sensibilidade antimicrobiana.

#### Questão 4:

No processo de identificação de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas são usados meios diferenciais, como o MacConkey e o Manitol Salgado (também conhecido como Chapman). **DIFERENCIE** esses dois meios de cultura, abordando suas finalidades, mecanismos de ação e características colorimétricas de cada um.

O meio de MacConkey tem por finalidade isolar e diferenciar bacilos Gram-negativos da família Enterobacteriaceae, o diferencial é a base na fermentação da lactose, é seletivo nos Gram-negativos, pois os sais biliares e o cristal violeta inibem o crescimento de Gram-positivos; o indicador de pH é o vermelho neutro, que muda de cor em meio ácido. Já o meio Manitol Salgado tem por finalidade se isolar e diferenciar espécies de Staphylococcus, com foco em *S. aureus*, seletivo para Gram-positivos devido à alta concentração de sal, que inibe outras bactérias, seu diferencial é a fermentação do manitol; a coloração indicado pelo pH vermelho de fenol, que vira amarelo em pH ácido.

#### Questão 5:

Muitos meios são classificados como meios diferenciais, que possuem indicadores de pH ou de reações bioquímicas que mudam de cor quando o microrganismo metaboliza certos compostos. Analise as alterações dos meios de cultura de uma amostra de coprocultura e **DETERMINE** e **JUSTIFIQUE** o provável patógeno, baseando-se nas características das colônias nos meios e na coloração de Gram.



O patógeno referente as imagens é a *Salmonella* spp., pois a coloração de Gram, apresenta bacilos Gram-negativos, sugerindo membros da família Enterobacteriaceae; já nas colônias ágar MacConkey mostram colônias incolores, indicando bactéria não fermentadora de lactose; nas colônias ágar Hektoen exibem colônias verdes com centro preto e nas colônias ágar XLD demonstram colônias vermelhas e rosadas com centro preto, o que aponta que não fermenta xilose/sacarose/salicina e produz  $H_2S$  (colônias pretas).

## REFERÊNCIAS

CÂMARA, Brunno. BIOMEDICINA PADRÃO – O blog da biomedicina. Técnicas de semeadura. Disponível em:

<https://www.biomedicinapadiao.com.br/2012/09/tecnicas-de-semeadura.html>.

Acesso em: 17 set. 2025.

SIMONI, Suelen Eloise. MICROBIOLOGIA CLINICA. Indaial – SC: Arquê, 2023. Reimpresso em 2024. P . 284. ISBN digital 978-85-459-2458-6.

ANVISA. MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE. Disponível em: [https://www.gov.br/anvisa/pt-](https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/modulo-4-procedimentos-laboratoriais-da-requisicao-do-exame-a-analise-microbiologica-e-laudo-final)

[br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/modulo-4-procedimentos-laboratoriais-da-requisicao-do-exame-a-analise-microbiologica-e-laudo-final](https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/modulo-4-procedimentos-laboratoriais-da-requisicao-do-exame-a-analise-microbiologica-e-laudo-final). Acesso em: 16 set. 2025.

Biomedicina. MMD SAÚDE. Disponível em: <https://sites.google.com/unicesumar.com.br/protocolos-pratica-biomedicina/mdd-sa%C3%Bade>. Microbiologia. Acesso em: 18 set. 2025.

