

EMPRESA BRASILEIRA DE SERVIÇOS HOSPITALARES HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

PORTARIA N. 31, de 18 de setembro de 2018.

O GERENTE DE ATENÇÃO À SAÚDE DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS, no uso das atribuições que lhe foram conferidas Portaria nº 156/2013, de 27 de novembro de 2013, publicada no Boletim de Serviço da Ebserh nº 16, de 02 de dezembro de 2013, e conforme Portaria n. 01 de 28 de agosto de 2017:

RESOLVE:

- I. Aprovar o Procedimento Operacional Padrão (POP) – Assistencial, referente a Microbiologia: Critérios de rejeição de amostras do Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados – Filial da Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares – EBSERH, parte integrante desta portaria.
- II. Esta portaria entra em vigor na data de sua publicação.

JOSÉ FLAVIO SETTE DE SOUZA

Procedimento Operacional Padrão (POP) – ASSISTENCIAL	POP nº. 15
MICROBIOLOGIA: CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO DE AMOSTRAS	Versão: 1.0
Unidade organizacional: HU-UFGD – LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Categoria profissional: Todos da área assistencial	
Linha de cuidado: Apoio diagnóstico	
Elaborado por: Leticia Cristina Limiere	Data de Criação: 21/08/2018
Revisado por: Junior Cesar Casagrande, Nathalie Gaebler Vasconcelos	Data de Revisão: 23/08/2018
Aprovado por: Gerência de Atenção à Saúde do HU-UFGD	Data de Aprovação: 18/09/2018
Responsável pelo POP: Viviane Regina Noro	

OBJETIVO: Divulgar os exames realizados no setor de microbiologia e quais os critérios de rejeição de amostras clínicas.

SIGLAS E ABREVIATURAS:

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BAAR – Bacilo Ácido-Álcool Resistente

BAC – Bacterioscopia

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute

TSA – Teste de Sensibilidade aos Antibióticos

DEFINIÇÃO:

- ❖ **JUSTIFICATIVA:** este documento visa esclarecer quais são os exames realizados no setor de microbiologia, explanando, ainda, os **critérios de rejeição** de amostras para guiar a solicitação de exames.
- ❖ **CONCEITOS:**
 1. **Cultura microbiológica:** é um método de multiplicação de micro-organismos em um meio de cultura pré-determinado, de acordo com a amostra coletada, sob condições laboratoriais controladas.
 2. **Teste de Sensibilidade aos Antibióticos:** teste que determina a sensibilidade de uma bactéria a determinados antibióticos.
 3. **Bacterioscopia:** exame microscópico. É a pesquisa de bactérias em amostra clínica sob a forma de esfregaço corado (coloração de GRAM).
 4. **Baciloscopia:** exame microscópico. É a pesquisa de bacilos álcool-ácido resistentes na amostra clínica sob a forma de esfregaço corado (coloração de Ziehl-Neelsen).
 5. **Pesquisa de Fungos:** exame microscópico. É a pesquisa de leveduras e fungos filamentosos em amostra clínica sob a forma de esfregaço corado ou análise direta em lâmina.

RESPONSÁVEL PELA PRESCRIÇÃO: médicos.

RESPONSÁVEL PELA EXECUÇÃO: funcionários do laboratório são responsáveis para aplicar os critérios de rejeição e realizar o processamento de amostras.

INDICAÇÃO: para avaliação de pedidos médicos e caracterização de amostras destinadas à microbiologia.

CONTRA-INDICAÇÃO: para solicitação de exames de outros setores.

MATERIAIS E EQUIPAMENTOS: não se aplica.

PROCEDIMENTOS:

1) Coleta de amostras clínicas:

- Colher antes da antibioticoterapia, sempre que possível. Quando a terapia antimicrobiana já tiver sido instituída, coletar antes da próxima dose do antimicrobiano.
- Observar a antissepsia 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 coletado para permitir uma completa análise microbiológica. Caso a quantidade seja pequena, **priorizar os exames de maior relevância.**
- Para procedimentos detalhados sobre coleta, volume, conservação e transporte de amostras consultar POPs específicos do setor de microbiologia.

2) Exames realizados no setor:

- **Cultura:** visa o isolamento e identificação de micro-organismos (**bactérias aeróbias, anaeróbias facultativas e leveduras**) e é dividida em quantitativa e qualitativa.
 - Quantitativa: culturas que possuem ponto de corte, conforme recomendação da ANVISA. São elas: urocultura, culturas de aspirado traqueal, escovado e lavado brônquico.
 - Qualitativa: culturas que não possuem ponto de corte, sendo considerado significativo qualquer crescimento de unidades formadoras de colônia.

A identificação dos micro-organismos é realizada através de meio automatizado Phoenix™ 100.

Tempo de análise:

- ◆ 48 horas para resultados negativos;
- ◆ 48 – 120 Horas para resultados positivos;
- ◆ **Hemoculturas** são incubadas por meio automatizado Bactec™ FX, e tem possuem tempo de análise de 120 horas para resultados negativos.
- **TSA:** realizado juntamente com a identificação do micro-organismo através do Phoenix™ 100, ou na limitação deste, realiza-se por disco-difusão ou gradiente de concentração em escala inibitória. Utiliza-se o CLSI vigente para padrão de leitura de inibição, conforme recomendação da ANVISA.
- **Cultura para fungos filamentosos:** visa o isolamento e identificação de fungos filamentosos, através de incubação em meio específico. É realizada somente identificação do gênero através da análise macro e microscópica.

Tempo de análise:

- ◆ 30 dias para resultados negativos;
- ◆ Para resultados positivos a análise é variável de acordo com o tempo de crescimento do fungo, sendo normalmente de 7 – 30 dias.

NOTA: No setor de microbiologia há uma lista com os micro-organismos que são identificados e quais possuem TSA padronizado. Para cultura de micro-organismos que não estão nessa listagem, o solicitante deve verificar na recepção do laboratório se o LACEN realiza tal exame e qual o procedimento necessário para envio da amostra.

- **Bacterioscopia:** pesquisa de bactérias. É realizada para todos os materiais, **exceto** fragmentos de biopsia.

Tempo de análise: o resultado é liberado no mesmo dia da solicitação.

- **Baciloscopia:** pesquisa de BAAR. É realizada para todos os materiais, **exceto** fragmentos de biopsia.

Tempo de análise: o procedimento é realizado às segundas, quartas e sextas-feiras, o resultado é liberado no período da tarde.

- **Pesquisa de fungos:** microscopia realizada para pesquisa de leveduras e fungos filamentosos. A metodologia de análise varia de acordo com a amostra, sendo realizada

pelos seguintes procedimentos: hidróxido de potássio (KOH) a 20%, tinta nanquim (tinta da China) e método de GRAM.

Tempo de análise:

- ◆ KOH – o resultado é liberado 24 horas após o preparo da lâmina;
- ◆ Tinta da China e GRAM – o resultado é liberado no mesmo dia da solicitação.

3) Critérios de rejeição de amostras: normas de rejeição para determinados materiais e condições que, quando detectados, tornam necessário o contato com o médico solicitante para melhores esclarecimentos, ou solicitação de nova amostra dentro dos critérios de aceitação.

➤ **Erros de identificação**

- Discrepância entre a identificação da amostra e o pedido médico.
- Falta de identificação da amostra.
- Origem da amostra ou tipo de amostra não identificada.
- Teste a ser realizado não especificado.

➤ **Amostras inadequadas:** são consideradas impróprias por não possuírem padrão de análise e/ou fornecerem resultados questionáveis.

- ◆ Amostras enviadas em frascos não estéreis;
- ◆ Material colhido em frascos não padronizados ou de origem desconhecida;
- ◆ Material colhido em swab não padronizado ou de origem desconhecida (“cotonete”);
- ◆ Material de colostomia;
- ◆ Mais de uma amostra de urina, fezes, escarro e ferida colhida em menos de 24 horas;
- ◆ Escarro com aspecto de saliva;
- ◆ Material clínico recebido em solução de fixação (formalina);
- ◆ Ponta de cateter de Foley;
- ◆ Urina coletada da extremidade do cateter de Foley, pois a ponta do cateter está invariavelmente contaminada com micro-organismos uretrais;

- ◆ Ponta de cateter vascular central SEM hemocultura pareada;
- ◆ Ponta de cateter de tamanho < 2 e > 5 cm;
- ◆ Swab peri-retal. Recomendado somente para isolamento de *S. agalactie* em gestantes;
- ◆ Swab de amostra de queimadura, de lesão de gangrena, de lesão periodontal, de úlcera de decúbito e de úlcera varicosa. Nesses casos recomenda-se sempre que possível a punção aspirativa ou biopsia;
- ◆ Swab seco;
- ◆ Material conservado inadequadamente com relação ao tempo de viabilidade e temperatura:

Amostra	Tempo limite de processamento	Temperatura	Meio de transporte
Fezes*	1 hora	Ambiente	Frasco estéril seco
Fragmentos***	30 minutos	Ambiente	Frasco estéril seco**
Líquidos em geral	Mais rápido possível	Ambiente	Frasco estéril seco
Material respiratório	30 minutos	Ambiente	Frasco estéril seco
Swab	8 horas	Ambiente	Meio semi-sólido Stuart
Urina	1 hora	Ambiente	Frasco estéril seco

*Cultura de fezes é realizada para o isolamento de *E. coli* enteropatogênica, *E. coli* enterohemorrágica, *E. coli* enteroinvasora, *Yersinia spp.*, *Salmonella spp.*, e *Shigella spp.*

**Caso o fragmento seja pequeno pode-se colocar 1 – 2mL de soro fisiológico para evitar ressecamento.

*** diâmetro recomendado é maior ou igual a 3mm. Coletar um fragmento para cada cultura solicitada.

RESULTADOS ESPERADOS:

- Evitar que culturas sejam realizadas de maneira indiscriminada, devendo assim a solicitação ser baseada nos protocolos publicados pela CCIRAS e ainda seguir os critérios estabelecidos nos protocolos de microbiologia.
- Aumentar o isolamento de micro-organismos potencialmente infectantes e, conseqüentemente, diminuir a quantidade de contaminantes.
- Diminuir as dúvidas do corpo clínico relacionadas ao tempo de análise para liberação de resultados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada a Assistência à saúde. Módulo 4 – Procedimentos laboratoriais: da requisição do exame a análise microbiológica e laudo final. Brasília: Anvisa, 2013.
2. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada a Assistência à saúde. Módulo 3 – Principais Síndromes Infeciosas. Brasília: Anvisa, 2013.
3. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada a Assistência à saúde. Módulo 7 – Detecção e Identificação de Micobactérias de Importância Médica. Brasília: Anvisa, 2013
4. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota técnica nº01/2013: Medidas de prevenção e controle das infecções por enterobactérias multirresistentes. Brasília: Anvisa, 2013.
5. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
6. Rossi, F. Resistência bacteriana: interpretando o antibiograma. São Paulo. Editora Atheneu, 2005.