UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA

Vanessa Caroline Randi Magalhães

A IMPORTÂNCIA DE UM SERVIÇO QUALIFICADO EM MICOLOGIA EM UM HOSPITAL REFERÊNCIA EM DOENÇAS INFECTOCONTAGIOSAS E DERMATOLOGIA SANITÁRIA DO ESTADO DE MINAS GERAIS.

Belo Horizonte

2020

Vanessa Caroline Randi Magalhães

A IMPORTÂNCIA DE UM SERVIÇO QUALIFICADO DE MICOLOGIA EM UM HOSPITAL REFERÊNCIA EM DOENÇAS INFECTOCONTAGIOSAS E DERMATOLOGIA SANITÁRIA DO ESTADO DE MINAS GERAIS.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito necessário para obtenção do título de mestre profissional em Microbiologia.

Orientador: Prof. Dr. Daniel de Assis Santos

Coorientadora: Dra. Marliete Carvalho da Costa

Coorientadora: Dra. Ana Cláudia Lyon Moura

Belo Horizonte

2020

043 Magalhães, Vanessa Caroline Randi.
A importância de um serviço qualificado de micologia em um hospital referência em doenças infectocontagiosas e dermatologia sanitária do estado de Minas Gerais [manuscrito] / Vanessa Caroline Randi Magalhães. – 2020.
303 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Prof. Dr. Daniel de Assis Santos. Coorientadoras: Dra. Marliete Carvalho da Costa, Dra. Ana Cláudia Lyon Moura.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia.

1. Microbiologia. 2. Micologia. 3. Reestruturação Hospitalar. I. Santos, Daniel de Assis. II. Maltarollo, Marliete Carvalho da Costa. III. Moura, Ana Cláudia Lyon. IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. V. Título.

CDU: 579

Ficha Catalográfica elaborada por Fabiane C M Reis CRB 6 2680

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

INSTITUTO DE CIËNCIAS BIOLÓGICA

MESTRADO PROFISSIONAL EM MICROBIOLOGIA APLICADA

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO PROFISSIONAL DE VANESSA CAROLINE RANDI MAGALHÃES

Nº REGISTRO 2018714478

Às 14 horas do dia 30 de setembro de 2020, reuniu-se, de forma virtual, na plataforma TEAMS, a Comissão Examinadora composta pela Profa. Nalu Teixeira de Aguiar Peres, Departamento de Microbiologia ICB/UFMG, Dra Danielle Leticia da Silva - UFMG e o Orientador, Prof. Daniel de Assis Santos - UFMG, para julgar o trabalho final, "A IMPORTÂNCIA DE UM SERVIÇO QUALIFICADO DE MICOLOGIA EM UM HOSPITAL REFERÊNCIA EM DOENÇAS INFECTOCONTAGIOSAS E DERMATOLOGIA SANITÁRIA DO ESTADO DE MINAS GERAIS ", da candidata, VANESSA CAROLINE RANDI MAGALHÃES, requisito final para obtenção do grau de MESTRE EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: MICROBIOLOGIA. Abrindo a sessão, a Presidente da Comissão, Profa. Erna Geessien Kroon – Coordenadora do Curso, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares, passou a palavra à candidata, para a apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa da candidata. Em seguida, a Comissão se reuniu, sem a presença da candidata, e do público, para julgamento e expedição de resultado final. A candidata foi considerada APROVADA. O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, a Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 30 de setembro de 2020.

Profa. Nalu Teixeira de Aguiar Peres_____

Dra Danielle Leticia da Silva_____

Prof. Daniel de Assis Santos (Orientador)_____

Prof. Erna Geessien Kroon

Coordenadora

Documento assinado eletronicamente por **Nalu Teixeira de Aguiar Peres**, **Professora do Magistério Superior**, em 01/10/2020, às 14:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

Documento assinado eletronicamente por **Daniel de Assis Santos**, **Professor do Magistério Superior**, em 01/10/2020, às 16:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

Documento assinado eletronicamente por **Erna Geessien Kroon**, **Coordenador(a) de curso de pós-graduação**, em 08/10/2020, às 18:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

Documento assinado eletronicamente por **Danielle Leticia da Silva**, **Usuário Externo**, em 20/10/2020, às 21:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0289640** e o código CRC **26862EA6**.

Dedico este trabalho a Deus, autor e consumador de minha fé. Que me iluminou e me direcionou nesta jornada. Aos colaboradores, verdadeiros “anjos” que estiveram sempre presentes nesta caminhada me incentivando. Ao meu orientador, por acreditar e a me ajudar a concretizar este projeto. Aos pacientes do Hospital Eduardo de Menezes, minha motivação para executá-lo. E a minha família, inspiração para um mundo melhor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que derrama diariamente seu Espírito sobre mim, capacita-me para pregar boas novas aos mansos, restaurar os contritos e a consolar todos os tristes; a fim de que se chamem carvalhos de justiça, plantados pelo SENHOR para a sua glória (Is. 61 1-3).

Ao meu querido esposo Rafael, por todo carinho e dedicação, sempre ao meu lado, ajudando e incentivando nos meus propósitos.

As minhas princesas Luana e Rafaela, pela alegria e prazer de tê-las como filhas e tornar minha vida mais doce e prazerosa.

A toda minha família pelos ensinamentos e colaboração, em especial minha sogra Iara e minha tia Cristina.

A minha primeira e eterna professora de micologia, Raquel Vilela, que me ensinou muito além da micologia médica.

Ao Dr.Dario Ramalho e a Dra. Lucinéia Carvalhais pela oportunidade a mim concedida de assumir o setor de micologia do HEM.

A direção do hospital Eduardo de Menezes, Dra. Thaysa Drummond e Dra. Virgínia Zambelli, por autorizar a execução deste projeto no HEM.

A Dra. Márcia Gregory, a Tayrine Santos e toda equipe do laboratório pelo apoio durante esta trajetória.

Ao meu orientador Daniel Santos, pelo direcionamento assertivo em todos os momentos deste trabalho.

A Marliete Costa, minha coorientadora por toda receptividade e apoio no laboratório da UFMG.

A Dra. Ana Cláudia Lyon, integrante da banca de qualificação e atual coorientadora, por toda disponibilidade e por ter tornado este trabalho ainda maior por meio de suas sugestões.

A Dra. Sandra Lyon, exemplo de amor e dedicação aos pacientes do HEM.

A Dirce Silva, colega de trabalho, sempre disposta a me ouvir, orientar e ajudar.

A professora Maria Isabel de Azevedo, pelos ensinamentos, colaboração e por compartilharmos objetivos comuns em prol da sociedade.

Ao Gustavo Freitas, colega de laboratório da UFMG, por me orientar e ajudar na condução dos experimentos.

Aos colegas do Laboratório de Micologia – UFMG, pelo acolhimento e colaboração.

Ao Programa de pós-graduação em Microbiologia aplicada, representado pela professora Dra. Erna Kroon, por esta oportunidade transformadora. Aos professores, pelo conhecimento e experiências compartilhados e a Márcia Milagres, por toda disponibilidade e prontidão.

E finalmente, agradecer a Nalu Peres, a Danielle Silva e a Thaís Magalhães por aceitarem o convite de compor a banca de defesa deste trabalho. Obrigada por toda disposição e contribuição.

RESUMO

O Hospital Eduardo de Menezes (HEM) é um hospital público referência em doenças infectocontagiosas e dermatologia sanitária. Localizado na cidade de Belo Horizonte, presta assistência médica a todo o estado de Minas Gerais a nível ambulatorial e hospitalar, em especial às micoses sistêmicas. O presente estudo desenvolveu-se no laboratório de micologia da instituição que se encontrava sem responsável técnico habilitado e com notificações da Vigilância Sanitária a resolver. O processo de reestruturação do setor de micologia iniciou com uma detalhada análise situacional para identificar possíveis problemas que poderiam estar comprometendo, diretamente ou indiretamente, o desempenho dos exames laboratoriais micológicos. As inconsistências resultantes foram listadas e em seguida agrupadas em quatro grupos: estrutural, organizacional, metodológico e recursos humanos (RH). Simultaneamente, as notificações da Vigilância Sanitária (VISA) dos últimos oito anos**,** direcionadas ao setor estudado, foram atualizadas e listadas. Em seguida, definiu-se ações para solucionar os diferentes problemas identificados. Implementou-as e verificou se o resultado das interferências atingiu o objetivo proposto: um serviço de micologia qualificado. As ações se basearam em uma organização física e processual do setor, elaboração e atualização de Procedimentos Operacionais Padrões, estabelecimento de fluxos internos, capacitações, alinhamento com a equipe multidisciplinar de saúde e utilização e implementação de técnicas laboratoriais micológicas fundamentadas em evidências científicas. Além disso, foi feito um estudo epidemiológico dos exames micológicos no período de 2014 a 2019, com o objetivo de identificar indicadores que pudessem quantificar o resultado do processo de reestruturação. A análise estatística das informações possibilitou a avaliação aprimorada do impacto potencial das ações adotadas no processo de reestruturação do setor. Assim, evidenciou-se que a organização estrutural, processual e de recursos humanos, juntamente com programas de capacitação e uso de metodologias baseadas em evidências científicas, impactam positivamente e de forma relevante no desempenho final do serviço prestado. Este estudo também possibilitou verificar que as técnicas laboratoriais utilizadas para o diagnóstico micológico possuem limitações inerentes a cada metodologia, e que o ideal é o uso associado destas. Além disso, demonstrou a emergência da esporotricose com manifestações disseminadas atípicas.

Palavras-chave: hospital referência em doenças infectocontagiosas, micoses sistêmicas e subcutâneas, reestruturação, laboratório de micologia, análise situacional, processos de trabalho, indicadores epidemiológicos, indicadores de qualidade, diagnóstico micológico e esporotricose.

ABSTRACT

Eduardo de Menezes Hospital (HEM) is a reference hospital in infectious diseases and health dermatology. Located in the city of Belo Horizonte, it offers medical assistance to the entire state of Minas Gerais on an outpatient and hospital level, especially systemic mycoses. The present study was published in the mycology laboratory of the institution, which was without qualified technician responsible and with notifications from the Health Surveillance to be resolved. The mycology sector process started with a detailed situational analysis to identify possible that may be compromised, directly or indirectly, the performance of the mycological laboratory exams. The inconsistencies granted were listed and then grouped into four groups: structural, organizational, methodological and human resources (HR). Simultaneously, as notifications from the Health Surveillance (VISA) of the last eight years, directed to the sector studied, were updated and listed. Then, actions were defined to solve the different problems identified. The proposed objective was implemented and verified as a result of the interferences achieved: a qualified mycology service. The actions were based on a physical and procedural organization of the sector, preparation and updating of Standard Operating Procedures, internal flow standards, training, alignment with the multidisciplinary health team and the use and implementation of mycological laboratory techniques based on scientific evidence. In addition, an epidemiological study of mycological examinations was carried out, from 2014 to 2019, with the objective of identifying indicators that could quantify the result of the information technology process. A statistical analysis of the information enabled an improved assessment of the potential impact of the actions taken in the sector's IT process. Thus, it became evident that the structural, procedural and human resources organization, together with training programs and the use of methodologies based on scientific evidence, positively and significantly impact the final performance of the service provided. This study also made it possible to verify that the laboratory techniques used for the mycological diagnosis have limitations inherent to each methodology, and that the ideal is the use associated with them. In addition, alter the emergence of sporotrichosis with atypical disseminated manifestations.

Keywords: reference hospital for infectious diseases, systemic and subcutaneous mycoses, local, mycology laboratory, situational analysis, work processes, epidemiological indicators, quality indicators, mycological diagnosis and sporotrichosis.

LISTA DE QUADROS, GRÁFICOS E TABELAS

Gráfico 1: Principais agentes fúngicos isolados no HEM por amostra clínica no período de 2014 a 2019..... **83**

Gráfico 2: Análise epidemiológica do serviço de micologia do HEM, período de 2014 a 2018..... **88**

Quadro 1: Planilha de acompanhamento do "Plano de ação de Reestruturação da Micologia HEM" **44**

Quadro 2: Planilha de Notificações da VISA – Laboratório Micologia HEM, 2013 a 2015..... **112**

Tabela 1: Distribuição das governabilidades das inconsistências notificadas e os grupos..... **48**

Tabela 2: Distribuição da responsabilidade de resolução das inconsistências notificadas e o *status*..... **57**

Tabela 3: Distribuição dos grupos das inconsistências notificadas após a reestruturação do setor micologia..... **57**

Tabela 4: Resultados de exames para fungos, micobactérias e leishmanioses nos atendimentos selecionados no período de 2014 a 2019..... **58**

Tabela 5: Resultados de exames para fungos de amostras de sangue por metodologias distintas..... **61**

Tabela 6: Resultados de exames para fungos de amostras de sangue por metodologias pareadas..... **63**

Tabela 7: Frequência relativa e absoluta das amostras clínicas analisadas nas culturas de fungos por ano..... **67**

Tabela 8: Frequência relativa e absoluta do exame micológico direto à fresco (EMD) por ano. **68**

Tabela 9: Frequência relativa e absoluta da pesquisa direta pelo Panótico (PC) por ano..... **68**

Tabela 10: Frequência relativa e absoluta da pesquisa pela coloração de Ziehl-Neelsen por ano..... **74**

Tabela 11: Frequência relativa e absoluta da pesquisa de fungos pela Tinta da china por ano... **74**

Tabela 12: Frequência relativa e absoluta dos resultados das culturas de fungos (Sabouraud e Mycosel) por ano..... **75**

Tabela 13: Frequência relativa e absoluta dos resultados das culturas de micobactérias por ano..... **75**

Tabela 14: Comparação dos resultados da pesquisa direta pelo Panótico antes e depois do POP 03- Coloração de Exame direto para Leishmanioses Giemsa/Panótico..... **77**

Tabela 15: Comparação dos resultados da cultura de fungos antes e depois do POP 11 - Cultura de fungos..... **77**
Tabela 16: Comparação dos resultados das culturas de micobactérias antes e depois do POP 12 - Cultura de Micobactérias..... **78**
Tabela 17: Frequência relativa e absoluta de culturas contaminadas por amostras em cada ano..... **79**
Tabela 18: Resultado de culturas de fungos em amostras sanguíneas pela hemocultura automatizada..... **84**
Tabela 19: Características demográficas dos pacientes do HEM com esporotricose, 2014 a março 2020..... **91**
Tabela 20: Casos de esporotricose HEM por ano, 2014 a 2020..... **92**
Tabela 21: Variáveis clínicas dos pacientes diagnosticados com esporotricose no HEM, 2014 a março 2020..... **93**
Tabela 22: Tratamento dos pacientes diagnosticados com esporotricose, HEM 2014 a março 2020..... **94**

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Resultado da análise situacional do setor de micologia no Diagrama de *Ishikawa*..... **41**
Figura 2: Laboratório de Micologia antes da reestruturação..... **49**
Figura 3 Laboratório de Micologia antes da reestruturação..... **50**
Figura 4: Setor micologia após ações de intervenções..... **50**
Figura 5: Local de incubação dos fungos antes da reestruturação..... **54**
Figura 6: Local atual de incubação das culturas fúngicas à temperatura ambiente, em sala na microbiologia. **55**
Figura 7: Diagnóstico micológico de *Histoplasma* spp. no sangue..... **65**
Figura 8: Diagnóstico micológico de *Histoplasma* spp. no aspirado de medula óssea. (AMO)..... **65**
Figura 9: Diagnóstico de *Histoplasma* spp. por cultura clássica..... **69**
Figura 10: Caso Clínico de Murcomicose..... **69**
Figura 11: Treinamento em Micologia Médica aos funcionários do setor microbiologia do HEM..... **71**
Figura 12: Diagnóstico micológico de *Cryptococcus* ssp..... **71**
Figura 13: Diagnóstico micológico de *Paracoccidioide*s spp..... **72**
Figura 14: Lâminas de imprints de lesão de biópsias de 4 pacientes distintos coradas pelo Panótico..... **73**
Figura 15: Lâminas de imprints de lesão de biópsias de 4 pacientes em aumento de 100x..... **73**
Figura 16: *Kit* estéril para o processamento do liquor..... **79**
Figura 17: Diagnóstico caso clínico de paracoccidioidomicose. **81**
Figura 18: Identificação de *Cryptococcus* spp..... **85**
Figura 19: Diagnóstico caso clínico de cromoblastomicose..... **86**

LISTA DE ABREVIATURAS

ACT	_	Actinomicetos
AIDS	_	*Acquired Immunodeficiency Syndrome*
AMO	_	Aspirado de medula óssea
ANVISA	_	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BAAR	_	Bacilo álcool ácido resistente
BK	_	Micobactérias
CECiDa	_	Consultoria em Estatística e Ciência de Dados
CEP	_	Comitê de ética em pesquisa
CIE	_	Contraimunoeletroforese
CLeH	_	Células leveduriformes e hifas
CMC	_	Centro Mineiro de Controle de Doenças e Pesquisa de Vigilância em Saúde
CONT	_	Contaminação
CQE	_	Controle de Qualidade Externo
CQI	_	Controle de Qualidade Interno
CRYP	_	*Cryptococcus* spp.
DIRAAS	_	Diretoria assistencial de serviços em saúde
DMSO	_	Dimetilsulfóxido ou sulfóxido de dimetilo
DNA	_	*Deoxyribonucleic acid*
DST	_	Doença sexualmente transmissível
ELISA	_	*Enzyme linked immunosorbent assay*
EMD	_	Exame micológico direto
EPC	_	Equipamentos de proteção coletiva
FHEMIG	_	Fundação Hospitalar de Minas Gerais
FILA	_	Fungos filamentoso
FISPQ	_	Fichas de informação de segurança de produtos químicos
FUNED	_	Fundação Ezequiel e Dias
GAFFI	_	*Global Action Fund for Fungal Infections*
GAL	_	Gerenciador de Sistema Laboratorial
HEM	_	Hospital Eduardo de Menezes
HISTO	_	*Histoplasma* spp.
HIV	_	Vírus da Imunodeficiência Humana
IB	_	*Immunoblot*
ICEx	_	Departamento de Estatística
IDD	_	*Imunodifusão dupla de Ouchterlony*
IQ	_	Indicador de qualidade

ISO	_	Organização Internacional de Normalização
KOH	_	Hidróxido de potássio
LJ	_	*Lowentein-Jensen*
LT	_	Leishmania tegumentar
LV	_	Leishmania visceral
MFL	_	MYCO/F
MHT	_	Hanseníase Tuberculóide
ML	_	Medicina Laboratorial
NC	_	Não conformidade
NEG	_	Negativo
NR	_	Não realizado
PARAC	_	*Paracoccidioides* spp.
PC	_	Coloração método Panótico
PCDA	_	Plan, do check, act,
PCR	_	*Polimerase chain reaction*
PLECT	_	Doenças infecciosas que desenvolvem lesões verrucosas
PNCQ	_	Programa Nacional de Controle de Qualidade
POP	_	Procedimente Operacional Padrão
QC	_	Contole de Qualidade
RAPD	_	Iniciadores randômicos
RDC	_	Resolução de Diretoria Colegiada
RFLP	_	*Restiction fragmente lenhthy polymorphism*
RH	_	Recursos humanos
RODO	_	*Rhodotorula* spp.
RT-PCR	_	*Reverse-transcriptase polymerase chain reaction*
SBAC	_	Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
SBPC	_	Sociedade Brasileira de Patologia Clínica
SIGH	_	Sistema Integrado de Gestão Hospitalar
SPORO	_	*Sporotrhix* spp.
SUS	_	Sistema Único de Saúde
TTP	_	Processo de teste total
UFMG	_	Universidade Federal de Minas Gerais
VISA	_	Vigilância Sanitária

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 16
1.1 Hospital Eduardo de Menezes 16
1.2 Laboratório Clínico 17
1.2.1 Padronização dos processos analíticos 18
1.2.2 Ferramentas utilizadas para a qualidade laboratorial 20
1.3 Micologia Médica 23
1.3.1 Classificação das micoses 24
1.3.2 Diagnóstico Micológico no panorama atual 25
1.4 Epidemiologia 29
1.4.1 Epidemiologia das micoses no Brasil 30
2. QUALIFICAÇÃO DO PROBLEMA A SER ABORDADO 33
3. OBJETIVOS 36
3.1 Objetivo geral 36
3.2 Objetivos específicos 36
4. MATERIAL E MÉTODOS 37
4.1 Casuística 37
4.2 Aspectos éticos 37
4.3 Gestão da Qualidade laboratorial 37
4.4 Estudo Epidemiológico 38
4.1.1 Coleta de dados 39
4.1.2 Análise de dados 40
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 41
5.1 Gestão da Qualidade laboratorial 41
5.2 Estudo epidemiológico 58
5.3 Série clínica de esporotricose 89
6. CONCLUSÃO 95
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 96
ANEXO 01: ASPECTOS ÉTICOS 106

A. APROVAÇÕES DO PROJETO CONEP. 106

B. APROVAÇÃO DO PROJETO CEP/HEM. 107

..... 107

C. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE. 108

ANEXO 02: QUADRO 1: PLANILHA DE NOTIFICAÇÕES DA VISA – LABORATÓRIO MICOLOGIA HEM, 2013 A 2015. 111

ANEXO 03: MODELO DE PLANILHA DE COLETA DE DADOS LABORATORIAIS 118

ANEXO 04: ORGANOGRAMA DOS SETORES LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS HEM, 2020. 119

ANEXO 05: PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO DO LABORATÓRIO DE MICOLOGIA DO HEM. 120

D. POP-CD-001: LABORATÓRIO DE APOIO E SETOR DE DISTRIBUIÇÃO. 120

E. POP-MICRO-013:RECEBIMENTO E ACEITABILIDADE DAS AMOSTRAS NO SETOR DE MICROBIOLOGIA 152

F. POP-MIC0-001: COLETA DE RASPADO INTRADÉRMICO. 175

G. POP-MICO-002: COLORAÇÃO PELO MÉTODO DE ZIEHL-NEELSEN A FRIO 183

H. POP-MIC0-003: COLORAÇÃO DE EXAME DIRETO PARA LEISHMANIOSES- GIEMSA- PANÓTICO. 188

I. POP-MICO-004: BACILOSCOPIA EM HANSENÍASE – ÍNDICE BACILOSCÓPICO (IB). 196

J. POP-MICO-005: FLUXO DE ANATOMOPATOLÓGICO 202

K. POP-MICO-06: FLUXO REVISÃO DE LÂMINA 207

L. POP-MICO-007: COLETA DE RASPADO DÉRMICO. 212

M. POP-MICO-008: PESQUISA DIRETA DE FUNGOS 217

N. POP-MICO-009: FLUXO DE PCR LEISHMANIA TEGUMENTAR ... 229

O. POP-MICO-10: FLUXO RESISTÊNCIA MEDICAMENTOSA EM HANSENÍASE. 234

P. POP-MICO-011: CULTURA DE FUNGOS 239

Q. POP-MICO-012: CULTURA DE MICOBACTÉRIAS. 255

ANEXO 06: FLUXOS DE ROTINAS DA MICOLOGIA. 275

A. ROTINA DIÁRIA 275

B. FLUXO IMUNOHISTOQUÍMICA. 276

C. FLUXO DE PEDIDO DE FRASCOS CYTOGENESIS. 277

D. FLUXO REQUISIÇÃO DE MATERIAIS. 278

E. FLUXO DE LIMPEZA DO SETOR. 279

..... 279

ANEXO 07: TREINAMENTO DOS PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO. 280

A. TREINAMENTO POP-MICO-001. 280

B. TREINAMENTO POP-MICO-002. 281

C. TREINAMENTO POP-MICO-04 282

..... 282

D. TREINAMENTO POP-MICO-005. 283

..... 283

E. TREINAMENTO POP-MICO-006 284

F. TREINAMENTO POP-MICO-007. 285

ANEXO 08: TREINAMENTOS E CAPACITAÇÕES AUTORA DO PROJETO. 286

A. CAPACITAÇÃO EM MICOBACTÉRIAS, FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS 2016. 286

B. DISCIPLINA ISOLADA DE MICOLOGIA CLÍNICA, FACULDADE DE FARMÁCIA DA UFMG 2016. 288

C. CAPACITAÇÃO EM LEISHMANIOSE TEGUMENTAR NO CENTRO DE PESQUISAS RENE RACHOU 2018. 289

D. CAPACITAÇÃO EM HANSENÍASE, INSTITUTO LAURO SOUZA PINTO 2018. 290

E. CAPACITAÇÃO EM LEISHMANIOSE TEGUMENTAR, FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS 2019. 291

ANEXO 09: PLANILHA DE REGISTRO DE TEMPERATURA DO LOCAL DE INCUBAÇÃO DAS CULTURAS DE FUNGOS. 292

ANEXO 10: CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO MICOLOGIA. 293

A. RELATÓRIO ANUAL DO PNCQ 2015 A 2016 293

B. RELATÓRIO ANUAL DO PNCQ 2016 A 2017. 294

C. RELATÓRIO ANUAL PNCQ 2018 A 2019 295

D. RELATÓRIO CENTRO DE PESQUISA RENÉ RACHOU, 2019..... 296

..... 296

ANEXO 11: CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO (CQI) MICOLOGIA. 297

A. CQI COLORAÇÃO ZHIEL NEELSEM. 297

..... 297

B. RASTREABILIDADE DO CORANTE ZHIEL NEELSEM..... 298

C. RASTREABILIDADE DO CORANTE PANÓTICO. 299

..... 299

D. RASTREABILIDADE SOLUÇÃO DE KOH A 30%. 300

..... 300

ANEXO 12: TREINAMENTO DE MICOLOGIA MÉDICA 301

A. TREINAMENTO MICOLOGIA MÉDICA DIA 26/02/2019. 301

. 301

B. TREINAMENTO MICOLOGIA MÉDICA DIA 27/02/2019. 302

ANEXO 13: TREINAMENTO LEISHMANIOSE TEGUMENTAR E FLUXO DE EXAMES. 303

..... 303

1. INTRODUÇÃO

1.1 Hospital Eduardo de Menezes

O Hospital Eduardo de Menezes (HEM) é um hospital público, da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG), conveniado ao SUS de Belo Horizonte, localizado no bairro Bonsucesso, na regional do Barreiro, que foi inaugurado em 1954 com o nome de Sanatório do Estado de Minas Gerais, vinculado à Secretaria Estadual de Saúde. Em 1977, o sanatório se integrou à rede FHEMIG, e na década de 80, passou a se chamar Hospital Eduardo de Menezes, com atendimento em clínica médica e tisiopneumologia (doenças pulmonares). No início da epidemia de AIDS sigla em inglês para a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (*Acquired Immunodeficiency Syndrome*), o HEM abriu leitos para os pacientes portadores do vírus HIV e pouco tempo depois tornou-se referência para AIDS e outras doenças infectocontagiosas. Atualmente, o hospital presta assistência especializada em infectologia e dermatologia sanitária, atuando também na pesquisa, formação e capacitação profissional. O ambulatório do hospital desempenha importante papel como parte do Programa de Integração Adequada dos Portadores de DST/HIV/AIDS do Ministério da Saúde como Serviço de Assistência Especializada (SAE) (FHEMIG, 2018; PREFEITURA DE BELO HORIZONTE, 2018).

O HEM presta assistência médica a todo o estado de Minas Gerais. O número de pacientes internados por mês é de, aproximadamente, 150 pacientes nas especialidades de infectologia e dermatologia. A infectologia representa 96% da taxa de ocupação do hospital. Já em relação ao atendimento ambulatorial, a clínica de infectologia atende, por mês, cerca de 900 pacientes e a clínica de dermatologia em média 1.850 pacientes sendo que 350 destes pertencem ao ambulatório de hanseníase.

No surto de febre amarela, nos anos de 2017 e 2018, o HEM teve grande importância no tratamento dos pacientes em estado crítico provenientes das áreas afetadas no interior do estado de Minas Gerais. Em 2020, com a pandemia do novo coronavírus, o HEM passou a atender exclusivamente pacientes acometidos com esta infecção durante este período.

O laboratório de micologia do HEM foi criado no ano de 2000 com o objetivo de suprir a demanda do serviço dermatológico por exames laboratoriais micológicos qualificados. Em março de 2018, a autora deste projeto, bioquímica efetiva da instituição, coordenadora do

setor de microbiologia, assumiu a coordenação do laboratório de micologia o qual encontrava-se sem responsável técnico. Na ocasião, o setor apresentava inconformidades que foram notificadas pela Vigilância Sanitária (VISA) e que necessitavam ser sanadas a fim de manter a continuidade e a qualidade do serviço prestado. Neste momento, exames laboratoriais adicionais foram incorporados ao laboratório de micologia como as pesquisas de leishmaniose tegumentar e a cultura de micobactérias. Vale a pena ressaltar que, apesar do nome do setor ser "laboratório de micologia", são realizados em adição aos exames micológicos, outros não relacionados a área micológica como os exames de hanseníase, os de leishmanioses e os de micobactérias.

1.2 Laboratório Clínico

O laboratório clínico é uma instituição que presta serviço destinado a análise de amostras biológicas para diagnóstico e monitoramento de doenças humanas, mas também para prevenção, estratificação de risco, prognóstico e monitoramento terapêutico. O valor da medicina laboratorial é inquestionável e este desempenha um papel cada vez mais dominante na tomada de decisões clínicas (PLEBANI; LIPPI, 2016).

Hallworth (2011) sugeriu que os resultados das análises laboratoriais são responsáveis por, aproximadamente, 70% das informações pertinentes à decisão médica (HALLWORTH, 2011). Um estudo realizado em 2016 relatou que cerca de 66% das decisões clínicas em oncologia e cardiologia são dirigidas por informações laboratoriais. Além dessas evidências, outros estudos enfatizaram o papel cada vez mais importante dos testes de laboratório, para tanto, exige-se do laboratório a necessidade de incorporar os conceitos da qualidade, particularmente na melhoria do processo de diagnóstico e na redução de erros de diagnóstico (DE SOUZA et al., 2016; PLEBANI, 2010) .

Para garantir a qualidade do serviço laboratorial é essencial implantar um sistema da qualidade aliado a um processo de gestão da qualidade que possa dar sustentação a todas as atividades, além de possibilitar a satisfação do cliente com o serviço prestado. Dessa forma, o laboratório clínico necessita desenvolver atividades planejadas, sistematizadas e implementadas com o objetivo de cumprir os requisitos da qualidade especificados. Os elementos básicos, porém essenciais, para garantir a qualidade dos laboratórios clínicos são: amostra clínica de qualidade, procedimentos operacionais padrão (POPs) de todos os processos, fluxos de trabalho estabelecidos, educação continuada dos colaboradores, manutenção dos

equipamentos, registros de todas as etapas para garantir a rastreabilidade dos processos, utilização de controle de qualidade interno dos exames, participação em programas de monitoramento da qualidade, respeito às normas de segurança em laboratório estabelecidas pelos órgãos reguladores, garantia da qualidade dos insumos laboratoriais e análise sistemática de falhas do sistema (ANVISA, 2005).

Em 2005, foram introduzidos os termos fase pré-pré-analítica e fase pós–pós-analítica para definir as etapas de execução de um exame que não dependem propriamente do laboratório. A fase pré-pré-analítica corresponde à seleção, pelo clínico, de exames apropriados ao diagnóstico a que se pretende e a respectiva solicitação. A coleta, transporte e recepção das amostras, quando estas não são de responsabilidade do laboratório, também podem estar incluídas nesta fase. A fase pós-pós-analítica se refere à interpretação do resultado pelo clínico (ANVISA, 2005).

A fase pré-analítica inicia-se com o atendimento da solicitação médica passando pela obtenção da amostra e finda ao se iniciar a análise propriamente dita. Já a fase analítica, refere-se ao conjunto de operações com descrição específica, utilizada na realização das análises de acordo com determinado método. E a fase pós-analítica, é após a obtenção de resultados válidos das análises e emissão do laudo, para a interpretação pelo solicitante (ANVISA, 2005). Um fato intrigante, percebido na literatura, é o de encontrar que aproximadamente 70% dos erros laboratoriais são referentes aos problemas ocorridos durante a fase pré-analítica, interferindo no processo analítico e pós-analítico (PLEBANI, 2012).

1.2.1 Padronização dos processos analíticos

A qualidade na medicina laboratorial é definida como a garantia de que cada etapa do processo analítico é executada corretamente, permitindo assim uma valiosa tomada de decisão médica e atendimento eficaz ao paciente (PLEBANI, 2010). Nas últimas décadas, houve uma redução de 10 vezes na taxa de erro analítico graças a maior confiabilidade dos exames provenientes da padronização de técnicas analíticas, reagentes e instrumentação. Dessa forma, para se obter qualidade nos exames é crucial que haja padronização dos processos, desde a solicitação médica até a liberação do laudo. A padronização no laboratório clínico tem a finalidade de prevenir, detectar, identificar e corrigir erros ou variações que possam ocorrer em todas as fases da realização do teste. Para isso, todas as atividades do laboratório devem ser

documentadas através de Procedimentos Operacionais Padrão (POPs) aprovados e colocados à disposição do corpo técnico e de apoio (ANVISA, 2005).

Os fatores pré-analíticos são difíceis de monitorar e controlar porque grande parte deles podem ocorrer fora do laboratório. De forma a amenizar os erros provenientes desta etapa, o laboratório deve fornecer instruções de coleta escritas ao paciente e aos outros profissionais de saúde, quando for o caso, bem como o adequado armazenamento e transporte das amostras biológicas até a entrega ao laboratório. É fundamental que a solicitação de exames e as amostras estejam devidamente identificadas com o nome, data e hora da coleta, tipo de material, sexo e idade e, quando necessário, constar na solicitação informações adicionais sobre a hipótese diagnóstica e uso de medicamentos (ANVISA, 2005). O laboratório clínico deve possuir instruções escritas para o recebimento de amostras, estabelecendo prazo, condições de armazenamento e temperatura para garantir a integridade e estabilidade dos materiais biológicos (LIPPI et al., 2013).

As diversas variáveis analíticas de um exame laboratorial devem ser muito bem controladas para assegurar que os resultados sejam precisos e exatos (DE SOUZA et al., 2016). O método laboratorial deve atender a princípios básicos que garantam a confiabilidade dos resultados obtidos. Para isso, utilizamos dos parâmetros de desempenho do método, em questão, para avaliar critérios como exatidão, precisão, sensibilidade analítica, especificidade analítica, recuperação analítica, intervalo analítico de medida, valores de referência, limite de detecção, interferentes, estabilidade de reagentes, robustez e interação com amostras (CONTROLLAB, 2012). Também devem ser monitoradas, variáveis como: temperatura do ensaio, qualidade da água, limpeza, calibração e manutenção dos dispositivos de medição e equipamentos. Todos os processos analíticos devem ser documentados detalhadamente nos POPs e colocados à disposição dos técnicos responsáveis para a realização dos exames. Esses documentos devem conter o nome do procedimento, o fundamento do método, as aplicações clínicas, o tipo de amostra a ser analisada, os reagentes e equipamentos necessários, procedimento metodológico detalhado da técnica, linearidade do método, limite de detecção, cálculos, controle de qualidade usado, valores de referências, significado clínico e as referências bibliográficas (ANVISA, 2005).

O conteúdo de um laudo deve conter os dados do laboratório e do responsável técnico assim como seus respectivos registros nos órgãos profissionais, dados do paciente e do médico solicitante, observações referentes às amostras analisadas, analito dosado ou

microrganismo pesquisado, resultado, unidade de medida, método, valores de referências, data da liberação e assinatura do responsável técnico (ANVISA, 2005). É fundamental que o clínico compreenda os processos analíticos envolvidos na geração de resultados, como o conhecimento de possíveis erros pré-analíticos e intra-analíticos, para a perfeita atividade na fase pós-analítica. O alinhamento entre o bioquímico e o médico é de fundamental importância para garantir que esse processo seja eficaz (SCIACOVELLI et al., 2016) .

1.2.2 Ferramentas utilizadas para a qualidade laboratorial

Para o gerenciamento da qualidade e otimização dos processos dispomos de vários métodos e ferramentas de auxílio, seguem-se alguns exemplos:

1.2.2.1. Controle de Qualidade

No laboratório clínico o componente do sistema de controle de qualidade pode ser definido como toda a ação sistemática necessária para dar confiança aos serviços de laboratório, a fim de atender as necessidades de saúde do paciente e prevenir a ocorrência de erros (DE SOUZA et al., 2016). Utilizam-se os produtos de controle de qualidade (QC), em intervalos definidos, para mensurar a qualidade do sistema analítico ao se fazer a comparação dos resultados do controle de qualidade com os limites estatísticos específicos. É um princípio básico do controle de qualidade que os valores laboratoriais relatados correspondam aos valores corretos ou previstos (CONTROLLAB, 2012).

O controle de qualidade laboratorial pode ser dividido em dois tipos: controle de qualidade interno (CQI) que ocorre dentro do laboratório; e controle de qualidade externo (CQE) que se dá entre laboratórios. Os CQIs são preparados que se assemelham às amostras biológicas e são utilizados em conjunto com estas com a finalidade principal de monitorar a estabilidade e reprodutibilidade do sistema analítico durante todas as etapas de sua execução. O CQI permite, sobretudo, a avaliação do erro aleatório de uma análise. Já o CQE tem por finalidade avaliar o desempenho dos sistemas analíticos através de ensaios de proficiência e realizar comparações interlaboratoriais (ANVISA, 2005).

No Brasil, os programas de controle de qualidade em laboratório clínico foram introduzidos na década de 70/80. Os ensaios de proficiência da Control Lab, vinculados à Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), e o Programa

Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ), da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC), são os mais difundidos (DE SOUZA et al., 2016).

1.2.2.2. Programa 5S

O programa 5S, de origem japonesa, é uma ferramenta sistemática e integrada aos aspectos estruturais de uma organização. O programa 5S apresenta esta terminologia devido às cinco palavras japonesas que iniciam com a letra S, *Seiri*, *Seiton*, *Seiso*, *Seiketsu* e *Shitsuke*, termos que adequados à língua portuguesa a partir de sensos, significam: senso de utilização, de ordenação, de limpeza, de saúde e de autodisciplina (RIBEIRO, 1994).

O 5S é um processo educacional imprescindível, e pode ser praticado por todos os níveis da organização. Dessa forma, as técnicas do 5S oferecem muitas vantagens para a organização, tais como eficiência do trabalho, eliminação de desperdício, racionamento, maior utilização e aproveitamento do espaço, trabalho em equipe, hábitos saudáveis por parte de todos, prevenção de acidentes e muitas outras melhorias que contribuem para a ascensão de uma empresa de qualidade (VANTI, 1999).

1.2.2.3. Ciclo PCDA

O ciclo PDCA é um novo conceito em qualidade cujas iniciais em inglês significam *plan*, do *check*, *act*, ou planejar, executar, verificar e atuar corretivamente, também conhecido como o ciclo de Deming da Qualidade. No ciclo PCDA, a primeira etapa, o planejamento, é considerada uma etapa crucial, pois se trata do momento de estudo da viabilidade de um novo projeto ou processo. Deve-se, nesta etapa, avaliar a compatibilidade do novo projeto com a política da organização e analisar a necessidade de recursos financeiros e humanos. A segunda etapa, a execução, compreende a operacionalização do projeto, com o estabelecimento de estruturas, responsabilidades e canais de comunicação. Na terceira etapa, ou verificação, ocorre a checagem e o monitoramento do processo estabelecido, onde se pode identificar problemas ou não-conformidades não previstas na fase do planejamento. Por fim, a quarta fase, ou de atuação, finaliza o ciclo com as ações corretivas e a análise crítica do novo projeto, para definição de sua implantação ou não na organização (PEREIRA, 2014).

1.2.2.4. 5w2H

A 5w2H se refere a um *cheklist* das atividades a serem desenvolvidas e funciona como um mapeamento dessas atividades a partir de um plano estruturado para a execução e

controle de tarefas, atribuindo as responsabilidades, o método para execução, o motivo, os custos e os prazos para conclusão (RODRIGUES, 2011). Assim, o uso dessa ferramenta permite identificar oportunidades de melhorias, auxilia na mensuração dos problemas, direciona as tomadas de decisões por parte dos gestores dos processos e possibilita o acompanhamento efetivo das ações.

1.2.2.5. Erros laboratoriais

Nas últimas décadas, houve uma crescente conscientização sobre a importância dos erros na prática laboratorial e seu possível impacto negativo nos resultados dos pacientes. Muitas estratégias foram incorporadas na rotina laboratorial para reduzir erros de laboratório, incluindo procedimentos internos de controle de qualidade, programas externos de avaliação da qualidade, certificação de programas de educação, licenciamento de profissionais de laboratório, credenciamento de laboratórios clínicos e regulamentação de serviços de laboratório, o que contribuiu para uma diminuição significativa nas taxas de erros analíticos. No entanto, estudos recentes demonstram que a fase pré-analítica concentra cerca de 70% dos erros de diagnósticos laboratoriais (PLEBANI, 2012) e que as etapas pré e pós-analíticas do processo de teste total (TTP) são mais suscetíveis a erros do que a fase analítica. Sendo que, a maioria dos erros é identificada nas etapas pré-pré-analítica e pós-pós-analítica fora do laboratório. Além disso, a alta frequência de erros atribuíveis a processos externos ao laboratório, particularmente na fase pré-analítica (87%), enfatiza a necessidade de um controle mais próximo de todos os processos e procedimentos envolvendo pacientes submetidos a exames laboratoriais. Questões como identificação adequada de pacientes e amostras, adequação das solicitações de teste, precisão na coleta de amostras biológicas, manuseio e transporte de amostras não podem mais ser consideradas triviais porque afetam fortemente a qualidade total. Outro achado importante do presente estudo é a porcentagem muito alta (73%) de erros classificados como evitáveis (CARRARO; PLEBANI, 2007).

A Especificação Técnica divulgada pela Organização Internacional de Normalização (ISO / TS 22367) define erro de laboratório como falha na conclusão da ação planejada conforme o planejado ou, o uso de um plano errado para atingir uma meta, ocorrendo em qualquer parte do ciclo do laboratório, desde a solicitação de exames, a apresentação de resultados, a interpretação e reação adequadas a eles (PLEBANI, 2012). Esse conceito conduz para o atendimento centrado no paciente onde qualquer consequência negativa direta ou indireta relacionada a um exame laboratorial deve ser considerada, independentemente de a fonte estar

na fase pré, intra ou pós-analítica. E, de certa forma, responsabiliza o laboratório clínico para a necessidade de investigar qualquer possível defeito que ocorra no (TTP) e que possa eventualmente ter um impacto negativo no paciente (PLEBANI, 2010).

1.2.2.6. Indicador de Qualidade

De acordo com a norma UNI 11097, indicador de qualidade (IQ) é uma informação qualitativa ou quantitativa capaz de avaliar mudança em um sistema ao longo do tempo e verificar as metas de qualidade definidas, para tomar as decisões e escolhas corretas. Os IQs selecionados devem possuir alguns pré-requisitos básicos como: relevância e aplicabilidade a uma ampla gama de laboratórios clínicos em nível internacional; solidez científica, com foco em áreas de grande importância para a qualidade em medicina laboratorial; viabilidade, tanto em relação à disponibilidade de dados quanto à definição de limites para desempenho aceitável e oportunidade para possível utilização como medida de melhoria laboratorial. Dessa forma, os IQs devem ser projetados para cobrir todas as etapas da análise laboratorial, desde a seleção adequada dos testes laboratoriais utilizados até a garantia do retorno de um laudo adequado ao clínico. A medição e o monitoramento dos principais indicadores deve ser um processo contínuo (PLEBANI, 2012). Logo, identificar, definir e implantar um indicador apropriado a determinada etapa de um processo consiste em um desafio considerável.

1.3 Micologia Médica

A expressão micologia médica foi expressa pela primeira vez pelo reverendo Miles Joseph Berkeley, em 1836. O Reino Fungi foi criado em 1959 por Robert Whittaker, que classificou os organismos em cinco Reinos: Monera, Fungi, Protista, Plantae e Animalia. Mais recentemente, em 1998, Cavalier-Smith classificou os organismos em dois Impérios ou Domínios: Prokaryota e Eukaryota, e em seis Reinos: Bactéria, Protozoa, Fungi, Plantae, Chomista e Animalia, sendo o Reino Bactéria o único integrante do Império Procaryota (ZAITZ, 2010).

Atualmente (ZAITZ, 2010), a micologia médica abrange o estudo de:

- Fungos (macro e microscópicos) pertencentes ao *Reino Fungi*,
- Actinomicetos (*Ray Fungi*) aeróbios e anaeróbios enquadrados no *Reino Monera* ou *Reino Bactéria,*

- Algas dos gêneros *Prototheca* e *Chlorella*, pertencentes ao *Reino Protozoa,*

- Protista Aquático - *Rhinosporidium seeberi*, outro membro do *Reino Protozoa.*

Os actinomicetos patogênicos são divididos em dois grandes grupos: aeróbios, quase sempre isolados do solo, de restos orgânicos e de vegetais e os anaeróbios, microaerófilos ou anaeróbios facultativos, que fazem parte da microbiota endógena do homem (ZAITZ, 2010).

As algas aclorofiladas pertencentes ao gênero *Prototheca* (kruger, 1894) resultam de mutação de algas aclorofiladas do gênero *Chlorella* (Beijerinck, 1980). As espécies de *Prototheca* compartilham semelhanças com as algas fotossintéticas *Chlorella* spp, causando casos incomuns de doenças em humanos e animais (ARNOLD and AHEARN, 1972). Atualmente, os membros do gênero *Prototheca* são taxonomicamente classificados como algas e pertencem à ordem *Chlorellales*, família *Chlorellaceae* (LASS-FLÖRL *et al*., 2007).

Rhinosporidium seeberi, um protista aquático, foi considerado um fungo por mais de um século, estudos recentes de DNA 18S ribossomal, isolado de "esporângios e endospóros" obtidos a partir de lesões de rinosporidiose, tanto humana como animal, classificam o *Rhinosporidium seeberi* como protista aquático do Reino Protozoa (FREDRICKS *et al*., 2000).

1.3.1 Classificação das micoses

A classificação clínica proposta por Odds e cols. em 1992, baseada na recomendação da Sociedade Internacional de Micologia Humana e Animal (ISHAM), é apropriada por englobar as infecções ocasionadas por fungos, actinomicetos e algas.

Classificação das micoses (Odds e cols.)

I. Micoses superficiais

II. Micoses profundas

III. Actinomicoses e nocardioses

IV. Prototecoses e infecções por *Chlorella* spp.

V. Infecções oportunistas

VI. Doenças respiratórias por fungos e actinomicetos

Micoses superficiais são infecções fúngicas que acometem as camadas superficiais da pele, os pelos e as unhas. Podem ser classificadas em micoses superficiais propriamente ditas e micoses superficiais e cutâneas e cutaneomucosas. Micoses superficiais propriamente ditas são as infecções fúngicas de camada córnea ou cutícula do pelo, em que a resposta imune do hospedeiro é mínima ou ausente. A presença do fungo raras vezes é sintomática, o que torna a infecção crônica. Incluem pitiríase versicolor, piedra branca, piedra preta e tinha negra. As micoses superficiais cutâneas que acometem a pele, os pelos e as unhas, são causadas por dermatófitos, leveduras do gênero *Candida* e fungos filamentosos não dermatófitos hialinos ou demácios, além de leveduras exógenas (RUIZ, 2010).

As micoses profundas são infecções fúngicas que podem acometer as camadas mais profundas da pele (micoses subcutâneas) ou disseminar-se para outros órgãos (micoses sistêmicas). Nas micoses subcutâneas, a inoculação do fungo se dá através de um trauma na pele. Neste grupo, encontram-se a esporotricose, a cromomicose, o eumicetoma, a doença de Jorge Lobo, a entomoftoromicose, a feo-hifomicose e a hialo-hifomicose. Já nas micoses sistêmicas, geralmente, a infeção tem origem nos pulmões e podem se disseminar para todos os órgãos ou tecidos. Como exemplos, podemos citar as caudadas por fungos dimórficos como a paracoccidioidomicose, a histoplasmose, a blastomicose, a coccidioidomicose e a esporotricose. E as causadas por fungos não dimórficos, a candidíase, a criptococose, a mucormicose, a feo-hifomicose e a hialo-hifomicose (RUIZ, 2010).

1.3.2 Diagnóstico Micológico no panorama atual

O diagnóstico micológico clássico das micoses baseia-se na identificação dos fungos por meio da observação de suas características morfológicas macroscópicas (cor, aspecto, textura da colônia, produção de pigmento difusível no meio, etc.) e microscópicas (forma e cor da hifa, presença ou não de septos, tipo e arranjo de esporos, etc.) ao microscópio óptico, a partir de colônias em cultura, além da observação direta do material clínico (ANVISA, 2013a; DE OLIVEIRA, 2015; FUENTEFRIA et al., 2019; OLIVEIRA, 2013). A identificação ideal dos fungos deve contemplar o gênero e a espécie, porém, muitas vezes, em especial para os fungos filamentosos, isso não é possível pela micologia clássica, pelo grau de dificuldade e complexidade desses microrganismos. A identificação fúngica é considerada extremamente complexa, exigindo dos profissionais de saúde um grande conhecimento micológico que inclui a biologia, morfologia, ecoepidemiologia dos fungos patogênicos e sintomatologia dos processos micóticos (REIS *et al*., 2015). Além disso, o método clássico apresenta limitações como o tempo de crescimento em cultura do agente etiológico, não são quantitativos, são

propensos a contaminações e erros, o que pode resultar, na demora do tratamento. A incorporação de novas tecnologias diagnósticas, como a aplicação de métodos de biologia molecular, ainda não é uma realidade em nosso sistema público de saúde.

1.3.2.1. Exame micológico direto

O Exame micológico direto (EMD) é a técnica utilizada para o diagnóstico de micoses superficiais, cutâneas e subcutâneas. No entanto, em algumas situações, pode estabelecer o diagnóstico de micoses sistêmicas, como a detecção de *Cryptococcus* spp.no liquor e de *Paracoccidioides* spp.no escarro. Vários materiais clínicos podem ser coletados para esse exame, como escamas, pelos, unhas, secreção, pus, crosta, grãos, biópsia, liquor, urina e escarro. O material coletado pode ser processado de várias maneiras: a fresco, em solução fisiológica, clareado com KOH/DMSO, corado com nanquim (tinta da China), Gram, Panótico e Giemsa (ANVISA, 2013a; OLIVEIRA, 2013).

1.3.2.2. Culturas fúngicas

A cultura é o método indispensável para o isolamento e a identificação do fungo patogênico. O aspecto macroscópico das colônias já nos permite a identificação do fungo em filamentoso ou em leveduriforme. O meio de cultura mais utilizado é o ágar-sabouraud-dextrose, que pode ser modificado com cicloheximida ou com cloranfenicol, antibióticos acrescentados aos meios para inibir o crescimento de fungos saprófitas, presentes no ambiente, e de bactérias colonizantes da microbiota do hospedeiro (ANVISA, 2013a; OLIVEIRA, 2013).

As leveduras têm como estrutura primária, visível ao microscópio óptico a partir de material clínico ou colônias em cultura, células que se reproduzem por brotamento, único ou múltiplo, em geral de forma arredondada. Os fungos filamentosos possuem como elemento constituinte básico a hifa, que pode ser septada ou não septada (cenocítica), hialina (hifomicetos) ou demácea (feo-hifomicetos). A classificação de fungos filamentosos é feita, em geral, pela associação de características morfológicas macroscópicas (cor, aspecto, textura da colônia, produção de pigmento difusível no meio, etc.), microscópicas (forma e cor da hifa, presença ou não de septos, tipo e arranjo de esporos, etc.) e de velocidade de crescimento (ANVISA, 2013a; DE OLIVEIRA, 2015; FUENTEFRIA *et al*., 2019; OLIVEIRA, 2013).

1.3.2.3. Anatomopatológico

Sabe-se que o padrão ouro para o diagnóstico das micoses é a demonstração do agente causal através do exame direto e da cultura do material obtido diretamente das lesões. No entanto, por diferentes razões, este procedimento não é realizado, e necessita de uma ou mais semanas para a conclusão. O exame histopatológico, por sua vez, possibilita o diagnóstico imediato do fungo e sua invasão tecidual, ou pelo menos, fornece o diagnóstico presuntivo da infecção micótica. Os fungos são agentes infecciosos que podem ser identificados facilmente em virtude do seu tamanho, morfologia e propriedades morfotintoriais (MULLER, LELLIS, 2010).

Além do diagnóstico etiológico, o exame pode fornecer informações adicionais sobre as inter-relações parasita-hospedeiro, tais como o nível de invasão do tecido, o padrão da resposta tecidual, a atividade do processo, a carga parasitária e a viabilidade do fungo. A resposta tecidual, nestes casos, geralmente é do tipo inflamação crônica específica e granulomatosa. Associada a essa reação granulomatosa pode-se ter uma reação supurativa com importante contingente de linfócitos, plasmócitos, neutrófilos e variável quantidade de eosinófilos que se dispõem na periferia e no interior dos granulomas e que associados a hiperplasia pseudoepiteliomatosa do epitélio de revestimento, são fortemente sugestivos de infecções micóticas. Outra característica histológica observada em certas infecções fúngicas é a reação Splendore-Hoeppli. É reconhecida pelas formações radiadas eosinofílicas que rodeiam intimamente a célula fúngica, micélio ou grão (MULLER, LELLIS, 2010).

1.3.2.4. Sorológico

Na micologia médica, as reações sorológicas contribuem para um resultado mais rápido, simples, e de menor custo, além de apresentarem valor prognóstico e servirem da monitorização da eficácia terapêutica, já que os níveis de anticorpos diminuem com a melhora do quadro clínico. Os antígenos, normalmente, empregados são extratos brutos que conferem maior positividade com as diversas frações presentes, mas podem apresentar reatividade cruzada com outros fungos que apresentem componentes antigênicos comuns (VIDAL, 2019).

As reações utilizadas na rotina são as de precipitação em gel, como a imunodifusão dupla de *Ouchterlony* (IDD) e a contraimunoeletroforese (CIE). Temos também as reações imunoenzimáticas de ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*), que apresenta elevada sensibilidade e o immunoblot (IB), que reúne alta resolução da eletroforese no gel de poliacrilamida e a alta sensibilidade do ELISA (VIDAL, 2019).

1.3.2.5. Métodos Moleculares

Os métodos moleculares com aplicação no diagnóstico de infecções fúngicas são, atualmente, utilizados para a sua detecção precoce. Um número crescente de técnicas moleculares diagnósticas tem sido desenvolvido nos últimos anos, devido à crescente prevalência das micoses invasivas e do tempo necessário para o diagnóstico quando são utilizados métodos microbiológicos clássicos. Esses métodos são concebidos para desenvolver os seguintes aspectos do diagnóstico micológico: identificação de fungos em nível de espécie por meio de alvos moleculares de relevância taxonômica; diagnóstico precoce de infecções fúngicas invasivas, detecção de mecanismos moleculares de resistência aos antifúngicos e tipagem molecular de fungos, todos os métodos restritos a laboratórios altamente desenvolvidos (MELHEM, GIANNINI, ALMEIDA, 2019).

Devido à sua especificidade e sensibilidade elevadas, além da rapidez, métodos moleculares podem ser inseridos na rotina dos laboratórios clínicos para complementar a informação fornecida pelos métodos convencionais e acima de tudo, para ajudar no diagnóstico de casos duvidosos. No entanto, várias questões, merecem maior detalhamento, como: qual seria o melhor DNA alvo para ser empregado em *kits* comerciais utilizados na rotina dos laboratórios de diagnóstico; quais são os melhores métodos de extração de DNA do fungo a partir de espécimes clínicos obtidos de vários locais; quais são os melhores métodos de detecção para uso rotineiro. DNA de fungos podem ser extraídos e purificados a partir de diferentes amostras clínicas, incluindo sangue total, soro e plasma, lavado broncoalveolar, aspirado de medula óssea e liquor. Entretanto, a eficiência dos métodos de diagnóstico molecular depende da fase pré-analítica, que inclui a qualidade da amostra biológica. A eficiência do método, aplicado a diferentes tipos, de amostras clínicas, pode não ser equivalente, dado que a quantidade de DNA pode ser distinta conforme a origem (MELHEM, GIANNINI, ALMEIDA, 2019).

Embora os métodos convencionais da micologia clássica sejam fundamentais, o diagnóstico molecular de fungos cada vez mais é praticado, especialmente, com iniciadores e sondas de ácido nucleico. Métodos moleculares para o diagnóstico baseados na reação em cadeia da polimerase, tanto no diagnóstico como na tipagem molecular são os mais utilizados (ZAITZ, 2010).

A PCR (*polymerase chain reaction)* é uma das técnicas mais empregadas nas diversas áreas do diagnóstico molecular. Saiki e *cols*. (1988) foram os primeiros a preconizar a PCR para amplificar o DNA de microrganismos, diretamente de amostras biológicas. A introdução de PCR resultou em grande revolução tecnológica, pois permitiu a ampliação de regiões (sequências de nucleotídeos) de interesse, contidas em uma amostra complexa de DNA,

e possibilitou a automação de métodos para a análise de genomas. A tecnologia de PCR é bastante flexível de modo a permitir a análise de genomas. Dentre as principais técnicas resultantes de modificações da PCR, podemos citar: RT-PCR, PCR *nested*, PCR multiplex e PCR a partir de iniciadores randômicos (RAPD, *Randon Amplified Polimorphic* DNA), PCR associado a análise do polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição (RFLP, *restiction fragmente lenhthy polymorphism*) e PCR em tempo real (MELHEM, GIANNINI, ALMEIDA, 2010).

1.4 Epidemiologia

Epidemiologia uma palavra de origem grega e pode ser traduzida como a *ciência do que se abate sobre o povo* segundo Almeida Filho (1993). Sabe-se que as definições do conceito de Epidemiologia se modificam no decorrer da história dessa ciência ou de acordo com a corrente do pesquisador que a define. Para a Associação Internacional de Epidemiologia (1973), trata-se do estudo dos fatores que determinam a frequência e a distribuição das doenças nas coletividades humanas. Almeida Filho oferece uma definição mais completa: *ciência que estuda o processo de saúde-doença na sociedade, analisando a distribuição populacional e os fatores determinantes das enfermidades, danos à saúde e eventos associados à saúde coletiva, propondo medidas específicas de prevenção, controle ou erradicação de doenças e fornecendo indicadores que sirvam de suporte ao planejamento, administração e avaliação das ações de saúde* (*apud* GALVANESE, WALDMAN, 2000, p. 1356).

Para o estudo da epidemiologia, pode-se considerar a afirmação de Rojas (1974), o método não constitui sacerdócio privativo da Epidemiologia. O método epidemiológico é, em linhas gerais, o método científico aplicado aos problemas de saúde das populações humanas. O qual descreve de forma detalhada os fenômenos que forem objeto do conhecimento e sua posterior análise. Para isso, é fundamental, utilizar-se da intuição, sensibilidade, persistência e um certo ceticismo, o que faz duvidar sistematicamente das aparências e até mesmo dos conhecimentos consolidados (*apud* GALVANESE, WALDMAN, 2000, p. 1358).

Os estudos descritivos descrevem a frequência e distribuição das doenças com vistas, principalmente, as características das pessoas, lugar e tempo. Segundo Hennekens e Buring (1987), a descrição das características epidemiológicas relativas ao tempo, possibilita obter-se o padrão comportamental de determinada doença a fim de caracterizar tendências, variações cíclicas e sazonalidade (*apud* GALVANESE, WALDMAN, 2000, p. 1363).

1.4.1 Epidemiologia das micoses no Brasil

Sabe-se, a luz de recentes estudos, que a epidemiologia das micoses endêmicas e oportunísticas das infecções fúngicas estão cada vez mais associadas a diferentes fatores como: fatores biológicos, virulência fúngica e resistência do hospedeiro; fatores ecológicos, como temperatura, umidade atmosférica, radiação ultravioleta, condições geológicas e inter-relações com outros seres vivos e fatores socioeconômicos como pobreza, saneamento, vestuário, profissão, hábitos profiláticos e migrações populacionais (RODRIGUES *et al*., 2013).

Neste contexto, pode-se citar a emergência de histoplasmose e criptococose associados à síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), na década de 80 no Brasil (BORGES *et al*., 1997; RAJASINGHAM *et al*., 2017).

A histoplasmose é uma micose sistêmica com surtos e microepidemias relatados há mais de 80 anos no Brasil. É descrita desde 1946, porém atingiu notável incidência na população durante a pandemia de AIDS (GUERRA *et al*., 2019). Geralmente, a histoplasmose é assintomática em hospedeiros imunocompetentes, com casos menores exibindo febre baixa, tosse seca e fadiga (KAUFFMAN, 2007). Pacientes imunocomprometidos acometidos pela AIDS, indivíduos em quimioterapia e pacientes transplantados, tendem a desenvolver a forma disseminada da infecção com altas taxas de mortalidade, principalmente se não forem tratados nos estágios iniciais da infecção (NACHER *et al*., 2014). Um estudo bibliográfico realizado por Guerra et al (2019), entre os anos de 1946 a 2017, demonstrou a presença de surtos e microepidemias em dez estados brasileiros dentre eles: AM, MT, BA, MG, PB, SC, DF, SP, RS e RJ. Além disso, estes foram associados a visitações em cavernas (52,5%), locais abandonados/ desativados (15%), minas (12,5%) e galinheiros (10%) (GUERRA *et al*., 2019).

Em adição, há de se considerar que os casos óbitos por histoplasmose indicam ser subestimados pela dificuldade do diagnóstico micológico. E que apesar do aumento da utilização da terapia antirretroviral, a histoplasmose continua sendo uma causa importante de morbidade e mortalidade em pessoas vivendo com HIV. Ademais, por apresentar sintomatologia clínica compatível com tuberculose, infere-se que em muitas situações a micose só é investigada após falha terapêutica ao tratamento para tuberculose (ADENIS *et al*., 2018).

A criptococose é considerada a principal micose oportunista e a micose que causou mais internações no período de 2000 a 2007. Essa micose acompanha os casos de aumento da população de risco, que são pacientes com AIDS, em terapias contra leucemias e linfomas e

que fazem uso de corticoides (CHATURVEDI e CHATURVEDI, 2011). O Brasil é responsável pelo maior número de casos de criptococose na América Latina (FIRACATIVE *et al*., 2018), sendo que a doença é mais prevalente na região sudeste. No entanto, no norte e nordeste, são encontrados casos de infecção criptocócica em pacientes HIV-negativos, sem evidência de imunodepressão, ocasionados por *Cryptococcus gattii* (CHEN *et al*., 2014). A taxa de mortalidade por criptococose no Brasil varia de 26 -70% (MOREIRA *et al.,* 2006; MORA *et al*., 2012; MEZZARI *et al*., 2013; SOUZA *et al*., 2013). Nota-se ainda, estudos recentes que associam a infecção viral por Influenza A (H1N1), como fator predisponente a micose por *Cryptococcus* spp. (HOSSEINNEZHADE RAPOSE, 2012, OLIVEIRA *et al*., 2017).

A paracoccidioidomicose é uma infecção fúngica sistêmica endêmica na América Latina sendo que cerca de 80% dos casos situam-se no Brasil, principalmente nas regiões sudeste, sul e centro-oeste, além de um baixo número de casos nas regiões norte e nordeste (MARTINEZ, 2017). O desenvolvimento de *Paracoccidioides* spp. no ambiente natural, supostamente em sua forma micelial, foi associado com regiões úmidas, precipitação média a alta, temperaturas amenas e presença de rios, florestas, áreas de lavouras agrícolas e em tatus (BELLISSIMO-RODRIGUES; MACHADO; MARTINEZ, 2011; RESTREPO; MCEWEN; CASTAÑEDA, 2001). As bases da epidemiologia da paracoccidioidomicose, consolidadas em meados do século XX, vêm se modificando nas últimas três décadas e estão relacionadas, principalmente, as mudanças na interação entre a espécie humana e o ambiente natural. Além da migração humana e da expansão das fronteiras agrícolas, há evidências que mudanças climáticas e ambientais e modificações nas práticas agrícolas e sociais também têm impacto na ocorrência de infecções e doenças induzidas por *Paracoccidioides* spp. (BARROZO *et al*., 2010; MARTINEZ, 2017) .

Há também a emergência zoonótica relacionada à esporotricose felina e humana, em todo território brasileiro, porém com destaque para o estado do Rio de Janeiro (RODRIGUES *et al*., 2013). Avaliando o contexto histórico da esporotricose no Brasil, tomando por base o RJ, observa-se que antes da década de 1990, o estado registrava um baixo número de casos de esporotricose, quase sempre não relacionados aos tipos de transmissão felina. Porém nas últimas duas décadas (1998-2016), foram relatados 4.669 casos de esporotricose transmitida por gatos (GREMIÃO et al., 2017). Os primeiros casos humanos de esporotricose por *Sporothrix brasiliensis* foram descritos nas regiões sul e sudeste, tendo o RJ como epicentro. Atualmente, percebe-se surtos de esporotricose se movendo em direção ao nordeste brasileiro (RODRIGUES *et al*., 2020a). Assim, presume-se que na epidemia brasileira

de esporotricose felina, a combinação de um fungo altamente virulento e um hospedeiro suscetível aliado às precárias condições sanitárias dos subúrbios tornaram o estado do RJ uma área altamente endêmica dessa micose entre animais e humanos (RODRIGUES *et al.*, 2013). Em resposta à esta emergência nacional, a esporotricose foi acrescentada à Lista Estadual de Doenças de Notificação Compulsória por meio da resolução SES/MG Nº 6.532, de 05 de dezembro de 2018.

Vale ressaltar o aumento das infecções oportunistas invasivas, em especial aspergilose relacionada aos pacientes submetidos à transplantes de órgãos e hematológicos (PAPPAS *et al*., 2010). Embora a candidemia esteja relacionada a altas taxas de morbidade e mortalidade, a incidência desta infecção nosocomial no Brasil é pouco conhecida, diferente de países como Estados Unidos e Europa onde sua epidemiologia é muito estudada (COLOMBO *et al*., 2006). Um estudo multicêntrico, no período de 2004 a 2003, em 11 hospitais terciários brasileiros, apontou para uma incidência geral de 2,49 casos por 1.000 admissões (COLOMBO *et al*., 2006). Sabe-se que a *Candida* spp. é o fungo mais frequente de sepse fúngica grave ou choque séptico em pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) e que a proporção de doentes com candidemia que evoluem para sepse grave ou choque séptico está na faixa de 8- 30% e 23-38%, respectivamente. E ainda, com o passar dos anos, percebe-se um aumento da prevalência de espécies de *Candida* não-*albicans* como causa frequente de candidemia (GEHRING *et al*., 2016).

2. QUALIFICAÇÃO DO PROBLEMA A SER ABORDADO

O laboratório clínico faz parte da assistência à saúde fornecendo informações importantes para a tomada de decisões clínicas. Este deve assegurar que os resultados produzidos reflitam, de forma fidedigna e consistente, a situação clínica apresentada pelos pacientes, garantindo que não representem o resultado de alguma interferência no processo. A informação produzida deve satisfazer as necessidades de seus clientes e possibilitar a determinação e a realização correta de diagnóstico, tratamento e prognóstico das doenças (CHAVES, 2010). O correto diagnóstico e tratamento dos pacientes, associados ao encaminhamento e adoção de intervenções indicadas em tempo hábil, desempenham importante papel na redução de uma série de doenças infecciosas ("Doenças infecciosas e parasitárias," 2010) .

A crescente ocorrência de doenças infecciosas fúngicas representa um grande desafio para a saúde humana em todo o mundo. Estima-se que o número total de espécies de fungos exceda 1,5 milhão (HAWKSWORTH, 2001), e entre essas espécies, mais de 600 são relatados como capazes de infectar humanos e animais, causando infecções simples a fatais (BROWN *et al*., 2012b). Além disso, o *Global Action Fund for Fungal Infections* (GAFFI) estimou que cerca de 1,5–2,0 milhões de pessoas morrem de uma infecção fúngica a cada ano, superando as mortes por malária ou tuberculose (DENNING E BROMLEY, 2015). As micoses sistêmicas não são doenças de notificação obrigatória no Sistema Brasileiro de Saúde e a situação real das doenças fúngicas no Brasil é difícil de avaliar. No entanto, sabe-se que elas apresentam um importante problema de saúde pública, em indivíduos com o sistema imune comprometido, relacionado aos custos sociais e econômicos derivados não só da doença em atividade, que ocorre em indivíduos na sua fase mais produtiva da vida, como pelo alto potencial incapacitante e a quantidade de mortes prematuras que acarretam quando sem intervenção terapêutica oportuna (BRASIL *et al*., 2011; QUEIROZ-TELLES *et al*., 2017b).

As infecções oportunistas constituem a principal causa de morbidade e mortalidade na população portadora do vírus da imunodeficiência humana (AIDS) e é crescente a incidência de infecção fúngica invasiva, especialmente nos pacientes com elevado grau de imunossupressão (BORGES et al., 1997; DONABEDIAN et al., 1994; FREITAS et al., 2012a; MOREIRA; FREITAS; LAMAS, 2015; QUEIROZ-TELLES; BUCCHERI; BENARD, 2019; RIBEIRO et al., 2009; ROTZ et al., 1996; SLOAN et al., 2008). Shen e cols. (2007) relataram que os pacientes portadores do HIV podem apresentar uma variedade de infecções fúngicas no

decorrer de sua trajetória, ocasionando uma elevada letalidade, já que o diagnóstico precoce é difícil devido à sintomatologia clínica pouco específica (SHEN *et al*., 2007).

Torna-se importante considerar situações adicionais que estão diretamente ligadas à ocorrência de micoses sistêmicas, como fatores climáticos, ocupacionais, sociais, topográficos e zoonóticos. Em relação ao clima, o Brasil é exposto a diferentes condições de temperatura e umidade que influenciam a proliferação dos fungos no ambiente e, consequentemente, a exposição dos hospedeiros. Além disso, alterações climáticas têm demonstrado ser um importante fator para a disseminação geográfica de espécies fúngicas ocasionando, dessa forma, o aumento da exposição humana a estes agentes (BARROZO *et al*., 2010; MARTINEZ, 2017). As micoses, por sua vez, podem ser aumentadas em situações laborais em que o indivíduo trabalha em locais próximos ao habitat natural do fungo (ARANTES *et al*., 2016) .

Observa-se, no contexto social que as micoses sistêmicas e subcutâneas acometem, em sua grande proporção, indivíduos em situação de maior vulnerabilidade econômica. No Brasil o serviço de saúde não é de fácil acesso a todos, devido às grandes discrepâncias econômicas entre os estados brasileiros que acabam por refletir nos serviços essenciais à população, dentre eles a saúde. Equipamentos de assistência à saúde de média e grande complexidade estão concentrados nos grandes centros, regiões metropolitanas e alguns polos regionais (DE ALBUQUERQUE *et al*., 2017; RODRIGUES *et al*., 2013). Por isso é fácil afirmar que os dados epidemiológicos atuais não refletem a realidade das micoses sistêmicas no Brasil (COSTA *et al*., 2019) .

Em relação as condições topográficas e suas alterações, percebe-se relatos na literatura de surtos e microendemias de micoses sistêmicas associados à visitação de cavernas e minas (GUERRA *et al*., 2019), bem como em grandes escavações de terra (FRANCESCONI DO VALLE *et al*., 2017) .

No aspecto zoonótico, verifica-se diferentes estudos que apontam para uma epidemia de esporotricose humana transmitida por gatos, com os números de casos aumentados exponencialmente entre os últimos anos em vários estados do Brasil, com manifestações diversas da doença , desde a forma cutânea à forma grave disseminada, este último em especial nos indivíduos imunossuprimidos (FALCÃO *et al*., 2020; GREMIÃO *et al*., 2017; RODRIGUES *et al*., 2013) .

Há de se considerar estudos que correlacionam a espécie- específica do agente fúngico com diferentes interações com o hospedeiro (DEMENTHON; EL-KIRAT-CHATEL; NOËL, 2012), além de manifestações clínicas distintas (DELLA TERRA *et al*., 2017). Como exemplo, o surgimento de *Sporothrix brasiliensis* sugere-se estar associado ao aparecimento de manifestações clínicas atípicas e mais graves em humanos (ALMEIDA-PAES *et al*., 2014; ALVES *et al*., 2020; FREITAS *et al*., 2015; SILVA-VERGARA *et al*., 2012). É sabido de estudos que se baseiam nas mudanças taxonômicas recentes em *Sporothrix* (RODRIGUES; DE HOOG; DE CAMARGO, 2015) para investigarem a patogênese da esporotricose espécie – específica com resultados a favor de que o processo de virulência é específico da cepa (ARRILLAGA-MONCRIEFF *et al*., 2009; DELLA TERRA *et al*., 2017; FERNANDES *et al*., 2018) .

Como mencionado, o HEM é um hospital referência em doenças infectocontagiosas e centro macrorregional em assistência especializada em dermatologia sanitária, responsável pelo atendimento de 853 municípios do estado de Minas Gerais. E, além disso, compõe, juntamente com a Fundação Ezequiel e Dias – FUNED e a Subsecretaria de Vigilância em Saúde o Centro Mineiro de Controle de Doenças e Pesquisa de Vigilância em Saúde (CMC), estabelecido pela RESOLUÇÃO SES/MG Nº 7044 (SA; GERAIS, 2020). Nessa organização, ao HEM compete as seguintes atribuições: apoio assistencial e referência hospitalar para os agravos de interesse epidemiológico; apoio à investigação de surtos; apoio à elaboração de protocolos clínicos e assistenciais; oferta de ações de capacitação aos municípios e regionais de saúde; disponibilização de profissionais para viagens em situações de interesse e oferta de apoio técnico na elaboração de políticas de controle de doenças e agravos de interesse da vigilância em saúde.

Considerando a situação supramencionada, esse trabalho contribui para demonstrar a necessidade de reestruturação do Serviço de Diagnósticos de Análises Clínicas do HEM com enfoque no diagnóstico das Doenças Tropicais e, simultaneamente, apresenta dados estatísticos que poderão nortear e fundamentar ações para transformações na área de diagnósticos necessárias à atual demanda da instituição. E ainda, esta proposta possibilitará a obtenção de dados com valiosas informações sobre a epidemiologia das micoses sistêmicas e subcutâneas além de identificar os seus fatores predisponentes e prognósticos.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Realizar ações que contribuam para o aumento da eficiência do serviço de micologia no Hospital Eduardo de Menezes.

3.2 Objetivos específicos

- Realizar a inserção do sistema de gestão da qualidade laboratorial.
- Promover programas de capacitações em doenças tropicais aos funcionários do HEM.
- Aumentar a eficiência de técnicas da micologia clássica.
- Garantir a integridade e motivação dos funcionários ao abordar instalações e equipamentos de acordo com as normas vigentes de regulamentação de laboratórios de análises clínicas.
- Comparar os dados epidemiológicos de micoses subcutâneas e sistêmicas antes e após a implementação das medidas de gestão de qualidade laboratorial.
- Realizar a descrição de séries de casos clínicos atípicos.
- Viabilizar futuros investimentos financeiros na instituição para a consolidação do Laboratório de Doenças Tropicais através da inovação e tecnologia na área de diagnóstico.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Casuística

Este estudo foi realizado no laboratório de micologia, setor integrado ao laboratório de análises clínicas, do Hospital Eduardo de Menezes (HEM), da Fundação Hospitalar de Minas Gerais (FHEMIG), localizado na cidade de Belo Horizonte, em Minas Gerais, Brasil. As funções desempenhadas pelo setor de micologia são: coleta de raspados dérmicos e intra-dérmicos, pesquisa e cultura de fungos, pesquisa de leishmanioses, baciloscopia de hanseníase, cultura de micobactérias e recebimento e encaminhamento de amostras para o exame anatomopatológico. Atualmente, o setor atua conjuntamente com o laboratório de microbiologia.

4.2 Aspectos éticos

O projeto, em questão, encontra-se aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa da UFMG, da rede FHEMIG e do Hospital Eduardo de Menezes, com duas emendas, o número de registro CAAE é 00883118.0.3001.5124, parecer número 3.241.285, de 03 de abril de 2019. O mesmo vem sendo desenvolvido segundo a RESOLUÇÃO Nº 466 (12 DE DEZEMBRO DE 2012) do Conselho Nacional de Saúde e suas normas e resoluções complementares respeitando os princípios da bioética, tais como, autonomia, não maleficência, beneficência, justiça e equidade, dentre outros, e visa a assegurar os direitos e deveres que dizem respeito aos participantes da pesquisa, à comunidade científica e ao Estado. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido-TCLE é aplicado para todos os participantes do estudo que se encontram em atendimento no serviço de internação ou ambulatorial da intituição (Anexo 01).

4.3 Gestão da Qualidade laboratorial

A primeira parte deste trabalho consistiu em realizar uma **análise situacional** do laboratório de micologia a fim de diagnosticar possíveis problemas que poderiam comprometer, diretamente ou indiretamente, o desempenho dos exames laboratoriais realizados neste setor. Para isso, utilizou-se uma ferramenta conhecida como Diagrama de *Ishikawa*, Espinha de Peixe ou Diagrama de Causa e Efeito que possibilitou detectar a relação entre o efeito e as causas que podem contribuir para a ocorrência de falhas no processo (RODRIGUES, 2011). E, posteriormente, elaborou-se, utilizando o método 5w2H, o **"Plano de ação de Reestruturação**

- **Micologia HEM"**, no qual listamos as inconsistências resultantes da análise situacional divididas em quatro âmbitos nomeados dessa forma: estrutural, organizacional, metodológico e recursos humanos (RH). A planilha apresentou as seguintes variáveis: item, grupo, inconformidade, ação corretiva, governabilidade e *status* após intervenções*,* conforme o Quadro 1, adiante no tópico 5.1.

Em seguida, as notificações da Vigilância Sanitária (VISA) dos últimos oito anos**,** direcionadas ao setor estudado e que se encontravam pendentes no momento da análise, foram levantadas e listadas. Com os dados obtidos foi elaborada uma **"Planilha de Notificações da VISA – Laboratório Micologia HEM, 2013 a 2015"**, contendo as seguintes variáveis: Nº do item, grupo, item, legislação, responsável e *status*, conforme Quadro 2 em (Anexo 02). Posteriormente, as inconsistências foram analisadas pelo programa Epi Info 3.5.3 (*Centers for Disease Control and Prevention,* Atlanta, Estados Unidos) para se obter a distribuição de frequência para as variáveis citadas.

Mediante as informações obtidas da análise situacional e do levantamento das notificações da Vigilância Sanitária (VISA), **definiu-se ações** a fim de solucionar os diferentes problemas identificados, estabelecendo a prioridade das intervenções nas questões a serem resolvidas.

A consolidação da gestão da qualidade se deu com a **tomada de decisões** para atingir o resultado esperado. As ações priorizadas foram aquelas na qual a governabilidade pertencia a atual responsável do setor. A etapa inicial foi a execução do programa 5s, seguida de implantação de fluxos de trabalho, padronização e treinamentos dos processos laboratoriais, alteração e incorporação de novas metodologias baseadas em evidências científicas, implementação de controle de qualidade laboratorial e, finalmente, a atualização da planilha de notificações da VISA, listando as inconsistências sanadas e as pendentes, argumentadas por normas e legislações, com as respectivas governabilidades.

4.4 Estudo Epidemiológico

Realizou-se o estudo epidemiológico das micoses sistêmicas e subcutâneas com a intenção de identificar um indicador capaz de avaliar o impacto das ações referentes à gestão da qualidade laboratorial, no setor micologia do HEM, ao longo dos anos.

4.1.1 Coleta de dados

Os dados utilizados foram obtidos a partir das informações disponíveis em duas bases: os dados brutos dos exames laboratoriais e os prontuários dos pacientes. Foram incluídas, no banco de dados, as informações dos exames laboratoriais dos pacientes que tiveram solicitação de cultura de fungos no período entre 2014 e 2019, conforme modelo de planilha de coleta de dados (Anexo 03).

A primeira etapa da coleta de dados, realizada nos dados brutos laboratoriais dos exames micológicos, teve o objetivo de se obter um panorama dos exames micológicos realizados na instituição, além de sua epidemiologia. As informações coletadas foram registradas em uma tabela padronizada com as seguintes variáveis: ano; prontuário; iniciais do paciente; sexo; data do exame; tipo de amostra clínica e resultados de exames. Diferentes metodologias foram utilizadas como: pesquisa pela coloração de Gram, pesquisa micológica direta a fresco (EMD), pesquisa pela coloração de panóptico (PC), pesquisa pela coloração de Ziehl Neelsen*,* cultura de fungos pelo método Sabouraud e Mycosel*,* pesquisa pela tinta da China, hemocultura pelo método automatizado, cultura de fungos e micobactérias (BK) pelo método automatizado (MYCO/F) e cultura de micobactérias (BK) em meio Lowentein-Jensen (LJ), (Anexo 03). As amostras estudadas foram provenientes do trato respiratório inferior, sangue, líquidos corporais, secreções e biópsias. Todos os resultados disponíveis, em determinada solicitação, na qual havia cultura de fungos, foram coletados. Em seguida, foram feitos agrupamentos em algumas variáveis categóricas para facilitar o entendimento dos dados estudados.

A variável Gram, teve os seguintes resultados: bacilos Gram negativos, bacilos Gram positivos e cocos Gram positivos que foram agrupados como bactérias. Nas variáveis Gram, EMD e pesquisa pelo Panótico as células leveduriformes, as hifas septadas e hialinas, as hifas asseptadas e hialinas e as pseudohifas foram agrupadas em células leveduriformes e hifas. Na variável cultura de fungos, houve o agrupamento de *Acremonium* spp., *Aspergillus fumigatus, Aspergillus terreus*, *Fusarium* spp., *Rizhopus* spp., *Sedosporium* spp. e fungo filamentoso não identificado, no grupo filamentosos. O grupo *Candida* spp. é o agrupamento de *Candida albicans*, *Candida* não *albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida* spp.. O grupo actinomices é o agrupamento de *Actinomyces spp.* e *Nocardia* spp.. E o grupo contaminação, contém as contaminações bacterianas, as fúngicas saprófitas e as não especificadas. As amostras biológicas também foram agrupadas em: amostras respiratórias, escarros espontâneos, escarros

induzidos, aspirados traqueais e lavado broncoaoveolar. Pele: as lesões provenientes de diversos membros. Líquidos corporais: liquor, líquido pleural, líquido ascítico e líquido peritoneal. Mucosas: amostras da cavidade nasal e bucal. É importante mencionar que o item biópsia pode conter o material pele ou linfonodo, neste caso, houve uma identificação incompleta do sítio de coleta na identificação da amostra.

A segunda coleta de dados, utilizando os prontuários médicos, foi realizada para os pacientes que apresentaram o resultado micológico relacionado a alguma micose. Nesta etapa, pretendeu-se obter informações relacionadas ao perfil epidemiológico dos pacientes do HEM como o seu quadro clínico, os esquemas terapêuticos, os aspectos demográficos, os fatores de risco e prognósticos, presença de outras comorbidades associadas e o desfecho final do caso. Para isso, casos isolados, o estudo abordado foi "Relato de caso clínico" e para as micoses mais prevalentes, os pacientes foram agrupados de acordo com o tipo de micose diagnosticada para a elaboração de "Série de casos Clínicos". Os grupos de micoses instituídos foram: candidíase, criptococose, esporotricose, paracoccidiodomicose e histoplasmose.

4.1.2 Análise de dados

A análise dos dados laboratoriais brutos, referentes ao período de 2014 a 2019, se deu através do programa Epi Info 3.5.3 (*Centers for Disease Control and Prevention,* Atlanta, Estados Unidos) para se obter a distribuição de frequência para as variáveis coletadas com o propósito de identificar os aspectos de interesse do presente estudo, neste momento, relacionados à qualidade do serviço laboratorial da instituição HEM.

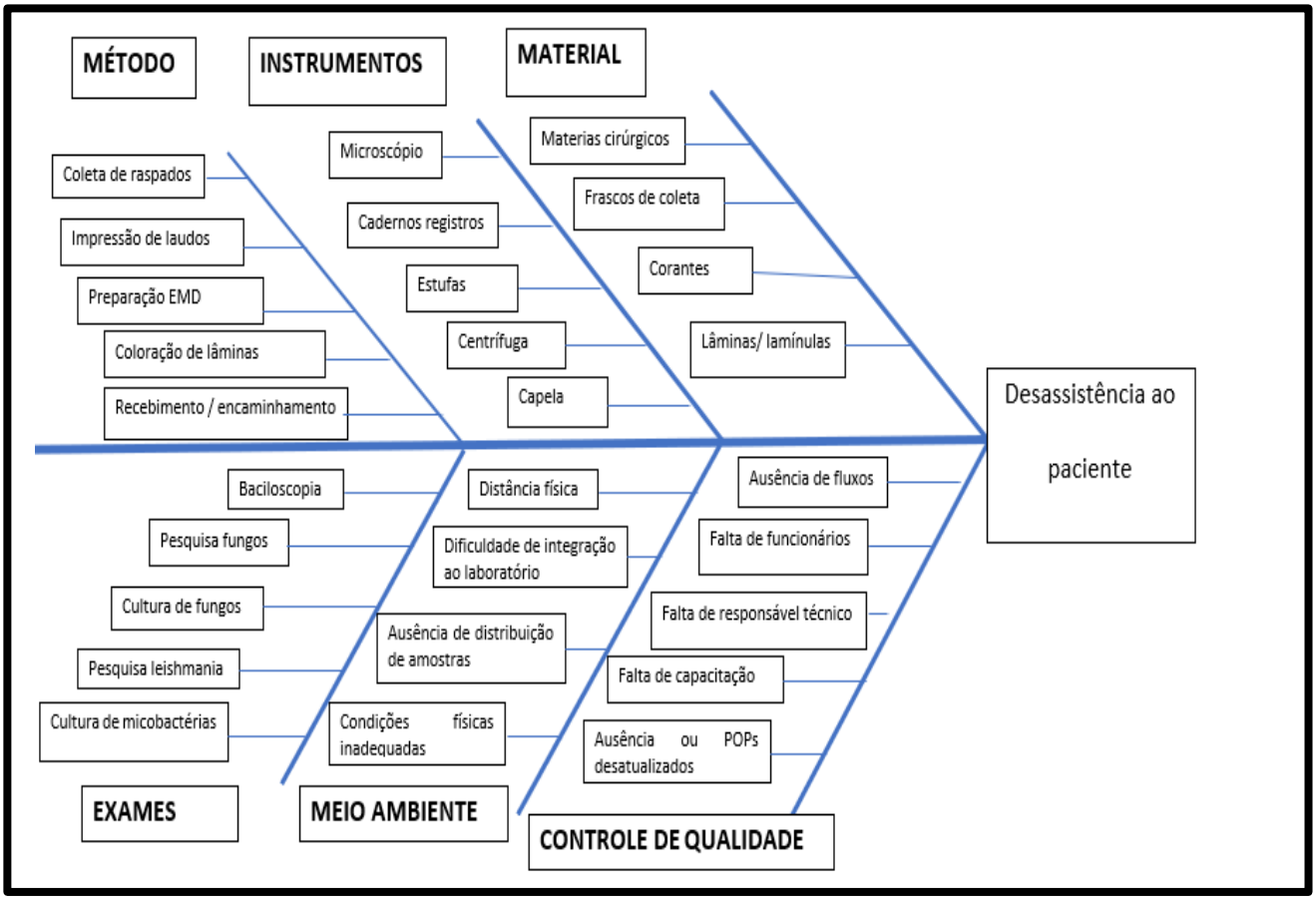
A análise epidemiológica foi realizada pelo CECiDa – Consultoria em Estatística e Ciência de Dados, projeto LabEst, Departamento de Estatística – ICEx – UFMG, utilizando o software R e os dados laboratoriais do serviço de micologia de 2014 a 2018.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Gestão da Qualidade laboratorial

Para a análise situacional do setor em estudo construiu-se o Diagrama de *Ishikawa*, o qual possibilitou detectar a relação entre o efeito e as causas que estavam contribuindo para a ocorrência de falhas no processo (Figura 01). A necessidade deste estudo veio após seriadas notificações de não-conformidades (NCs) de exames de culturas de fungos, de materiais provenientes de pacientes ambulatoriais, que não estavam sendo processados. Assim, foram investigadas as causas que poderiam estar relacionadas ao efeito definido como: **desassistência ao paciente.**

Figura 1: Resultado da análise situacional do setor de micologia no Diagrama de *Ishikawa.*



Fonte: serviço de micologia HEM, 2018

É interessante mencionar que esta **análise situacional**, para investigar as causas das NCs, foi solicitada pela diretoria clínica assistencial do HEM à bioquímica e autora deste projeto, quando esta foi transferida do setor de microbiologia para o setor de micologia. As notificações de NCs são instrumentos aplicados em qualquer ponto do sistema de gestão ou

tarefas do cotidiano: parte técnica, administrativa ou da qualidade, assim que se verifica um não atendimento a um requisito. Após estabelecidas, ações corretivas devem ser instituídas a fim de eliminar os problemas, as causas dos problemas e os processos devem ser revistos de modo que o problema não venha ocorrer novamente. Assim, as NCs, quando trabalhadas, constituem uma oportunidade de melhoria (SILVA *et al*., 2002).

As causas levantadas nesta análise foram: ausência de responsável técnico, funcionários em números insuficientes para a demanda do setor; profissionais não qualificados para o serviço, desatualização ou ausência de Procedimentos Operacionais Padrão - POP's para todas as atividades realizadas no setor, problemas no recebimento, conferência e processamento das amostras clínicas, ausência de fluxos de trabalho, setor não alinhado ao laboratório de análises clínicas, ausência de ações de controle de qualidade, setor desorganizado e com estrutura física em desacordo com a RDC nº50 (LEGISLAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2002), a qual dispõe sobre o Regulamento Técnico para planejamento, programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde.

Em seguida, as causas levantadas foram relacionadas ao problema investigado: desassistência do paciente, caracterizado por exames micológicos não realizados, embora as amostras tivessem sido recebidas pelo laboratório. Contextualizando, neste período, o setor de micologia encontrava-se com o quadro de funcionários deficiente, sem bioquímico responsável e com apenas uma técnica de patologia, em plantões alternados. O setor era responsável por colher as amostras clínicas como os raspados dérmicos e intra-dérmicos, receber as amostras de biópsias de lesões de pele, processá-las e quando solicitado, encaminhá-las para o laboratório de anatomopatologia.

O primeiro ponto a ser considerado é o fato de o setor de micologia ser responsável por apenas parte dos exames micológicos realizados no HEM, a outra parte dos exames, provenientes dos pacientes internos, eram processados no laboratório de microbiologia e analisados pela bioquímica responsável por este setor. Além disso, a organização da micologia era independente do laboratório de análises clínicas não havendo, portanto, uma comunicação direta entre a micologia e a microbiologia, apesar de ambos os setores realizarem exames micológicos dos pacientes do HEM, conforme organograma setores (Anexo 04). Outro ponto crucial para o entendimento das NCs é o período de funcionamento do setor de micologia em dias alternados. Vale a pena ressaltar que, os ambulatórios de dermatologia e infectologia, de

onde vêm as amostras encaminhadas à micologia, biópsias de lesões de pele com hipótese diagnóstica de PLECT - doenças infecciosas que desenvolvem lesões verrucosas: paracoccidiodomicose, leishmaniose cutânea, esporotricose, cromomicose e tuberculose cutânea (DA COSTA-LLANOS; MARTINEZ; AZULAY, 2019), funcionam de segunda-feira à sexta-feira e realizam consultas médicas e coletas de amostras para PLECT em todos os dias de funcionamento.

O primeiro questionamento investigado foi: **uma vez que o setor de micologia é responsável por receber as amostras biológicas e considerando o fato dele não funcionar diariamente, onde ficariam armazenadas as amostras para PLECT colhidas no ambulatório nos dias que o setor estava fechado?** A busca pela resposta desta indagação possibilitou desvendar vários problemas referentes à fase pré-analítica dos exames micológicos que poderiam estar contribuindo, fortemente, para a desassistência ao paciente. Além disso, falhas graves capazes de reduzir a qualidade destes exames foram identificadas.

Verificou-se que não havia um fluxo estabelecido para o armazenamento e encaminhamento das amostras de biópsias colhidas pelo ambulatório. Geralmente, nos dias que a micologia se encontrava fechada as amostras eram entregues no laboratório de análises clínicas, em outras situações as amostras permaneciam no ambulatório até o dia seguinte. No laboratório de análises, não encontramos um procedimento escrito descrevendo os procedimentos relacionados ao recebimento, armazenamento e encaminhamento das amostras para o setor da micologia. Vale a pena mencionar que, o setor de distribuição do laboratório de análises clínicas foi estabelecido em outubro de 2017, mas a responsabilidade técnica por profissional de nível superior ocorreu, aproximadamente, após dois anos de sua efetivação, em julho de 2019, conforme registros do **POP-CD- 001 Laboratório de apoio e Setor de distribuição** (Anexo 05 A).

Antes do estabelecimento do setor de distribuição as amostras eram recebidas e encaminhadas pela secretaria do laboratório sem critérios estabelecidos. Outra questão detectada são os pedidos médicos para a amostra de PLECT que eram fragmentados. Normalmente, fazia-se uma solicitação médica com as pesquisas de fungos, micobactérias e leishmanioses e outra com as culturas de fungos, micobactérias e leishmanioses. Acontece que, os exames de pesquisas de fungos e leishmanioses e a cultura de fungos eram realizados na micologia, a pesquisa e cultura de micobactérias no setor de microbiologia e a cultura de leishmaniose encaminhada para o Centro de Pesquisas René Rachou, referência estadual em

Leishmaniose tegumentar. Logo, a separação dos exames, em diferentes solicitações, não obedecia a uma lógica para o direcionamento das amostras.

Dessa forma, o funcionamento intermitente do setor micologia; a falta de procedimentos de armazenamento e encaminhamento de amostras biológicas no ambulatório; a ausência do setor de distribuição e de critérios estabelecidos para o recebimento, o armazenamento e encaminhamento de amostras biológicas no laboratório de análises clínicas e por fim, a prática de solicitações médicas fragmentadas aleatoriamente, não considerando os locais de análises, constituem, isolados, ou associados, eventos que fundamentam as causas da desassistência ao paciente. Os problemas detectados, até então, pertenciam à fase pré-analítica do processo, fase em que ocorrem 70% dos erros laboratoriais que interferem nos processos analítico e pós-analítico (PLEBANI, 2012). Além disso, os eventos encontrados são classificados em problemas de processos responsáveis por uma porcentagem muito alta de erros que podem ser evitados (CARRARO; PLEBANI, 2007).

Em continuidade à reestruturação do setor, utilizou-se o método 5w2H para elaborar e acompanhar o **"Plano de ação de Reestruturação - Micologia HEM"**, no qual listamos as inconsistências resultantes da análise situacional, divididas em quatro âmbitos nomeados da seguinte forma: estrutural, organizacional, metodológico e recursos humanos (RH). A planilha apresentou as seguintes variáveis: item, grupo, inconformidade, ação corretiva, governabilidade e *status* após intervenções, conforme o Quadro 1.

Quadro 1: Planilha de acompanhamento do "Plano de ação de Reestruturação - Micologia HEM" (continua).

Item	Grupo	Inconformidade	Ação Corretiva	Status após intervenção
1	Estrutural	Distância física do setor micologia em relação ao laboratório.	Integração da micologia com o laboratório através de processos de trabalho.	Resolvido
2		Ausência de elevador de amostras.	Fluxo de busca de amostras no laboratório.	Resolvido
3		Presença de móveis enferrujados.	Substituição do armário e arquivo de aço por móveis novos de MDF.	Resolvido

Quadro 1: Planilha de acompanhamento do "Plano de ação de Reestruturação - Micologia HEM"(continuação).

Item	Grupo	Inconformidade	Ação Corretiva	Status após intervenção
4	Estrutural	Instrumentos cirúrgicos em quantidade insuficiente.	Solicitação de compra de pinça de Kelly.	Aguardando
5		Instrumentos cirúrgicos de coleta inadequados para uso.	Descarte de instrumentos inadequados.	Resolvido
6		Ausência de estufas a 25°C para cultura de fungos.	Solicitação de compra de estufas.	Aguardando
7		Estufas a 37°C em quantidade insuficiente.	Solicitação de compra de estufas.	Aguardando
8		Ausência de sala de coleta com maca e exclusiva para o setor.	Já solicitado pela chefia do laboratório.	Aguardando
9		Ausência de ar condicionado.	Solicitada compra.	Pendente
10		Ausência de sala com barreira para a capela.	Solicitada adequação	Pendente
11		Chão poroso e permeável.	Solicitado uma pintura com tinta impermeável do piso.	Pendente
12	Organizacional	Uso de caixas de papelão para armazenamento.	Substituição por caixas organizadoras de plástico.	Resolvido
13		Recebimento, armazenamento e encaminhamento de amostras biológicas não definidos.	Estabelecimento de fluxo e processos de trabalho para recebimento, armazenamento e busca de materias biológicos no laboratório.	Resolvido
14		Falha no processo de revisão de lâminas.	Estabelecimentos de processos de trabalho para revisão de lâminas.	Resolvido
16		Dificuldade de devolução de lâminas de revisão de anatomopatológicos.	Suporte de dois bioquímicos do laboratório na ausência de funcionário no setor.	Resolvido
17		Dificuldade de encaminhar amostras para o anatomopatológico, na ausência de funcionário do setor.	Suporte de dois bioquímicos do laboratório quando não tiver funcionário no setor.	Resolvido
18		Atraso na entrega de resultados dos laboratórios de apoio. Que tinham de ser impressos pelo HEM.	Laboratórios de apoio fornecem os laudos impressos.	Resolvido

Quadro 1: Planilha de acompanhamento do "Plano de ação de Reestruturação - Micologia HEM" (continuação).

Item	Grupo	Inconformidade	Ação Corretiva	Status após intervenção
19		Ausência de fluxo de segregação dos Resíduos de Saúde. E limpeza de materiais.	Extensão da rotina padronizada no laboratório do HEM para a micologia.	Resolvido
20		Dificuldade de limpeza diária.	Solicitação e definição de um horário de limpeza, diariamente.	Resolvido
21	Metodológico	POP 01- Coleta de Hanseníase.	POP revisado.	Resolvido
22		POP 02 - Coloração para Hanseníase.	POP revisado.	Resolvido
23		POP 03 - Coloração de exames direto para Leishmaniose.	POP elaborado.	Resolvido
24		POP 04 - Baciloscopia em Hanseníase - índice baciloscópico (IB).	POP revisado.	Resolvido
25		POP 05 - Fluxo de exames anatopatológicos.	POP elaborado.	Resolvido
26		POP 06 - Fluxo de Revisão de Lâminas.	POP elaborado.	Resolvido
27		POP 07 - Coloração Panótico.	POP elaborado.	Resolvido
28		POP 08- Pesquisa direta de Fungos.	POP revisado.	Resolvido
29		POP 09 - Fluxo de PCR para Leishmaniose Tegumentar.	POP elaborado.	Resolvido
30		POP 10 - Fuxo resistência medimentosa em Hanseníase.	POP elaborado.	Resolvido
31		POP 11 - Cultura de Fungos.	POP elaborado.	Resolvido
32		POP 12 - Cultura de Micobactérias.	POP revisado.	Resolvido
33		Ausência de Controle de Qualidade Interno.	Incluído para os corantes e KOH. Pesquisas de leishmaniose tegumentar.	Resolvido
34		Ausência de rastreabilidade dos insumos.	Planilha de rastreabilidade.	Resolvido
35		Ausência de registro de resultados críticos.	Incluídos planilhas de registro de temperatura.	Resolvido
36		Ausência de registro de planilhas de temperaturas.	Instalação de termohigrometros e planilhas de registros.	Resolvido

Quadro 1: Planilha de acompanhamento do "Plano de ação de Reestruturação - Micologia HEM"(conclusão).

Item	Grupo	Inconformidade	Ação Corretiva	Status após intervenção
37	Metodológico	Amostras perdidas por não serem processadas.	Recebimento e armazenamento de amostras de biópsias pelo laboratório e microbiologia. Busca material na microbiologia. Centralização das culturas de fungos na microbiologia.	Resolvido
38		Alto índice de contaminação das culturas de fungos.	Compra de ágar Sabouraud com cloranfenicol. Centralização do plantio e incubação das culturas de fungos na microbiologia.	Resolvido parcialmente
39		Contaminação das culturas de liquor.	Elaboração de *kits* estéreis para processar liquor (tubos, ponteiras e gases).	Resolvido parcialmente
40		Falta de treinamento dos processos.	Treinamento dos funcionários.	Resolvido
41		Inexperiência em exames de leishmaniose.	Curso René Rachou e FUNED.	Resolvido
42		Inexperiência em exames de hanseníase.	Curso Instituto Lauro de Sousa Lima	Resolvido
43		Dificuldade de identificar leveduras.	Fluxo de identificação de leveduras.	Resolvido
44		Limitação na identificação de leveduras.	Inclusão de ágar niger. Encaminhamento para HJXXIII.	Resolvido
45		Educação continuada.	Curso de micoses sistêmicas para os funcionários. Grupo de WhatsApp para consulta e discussão de casos.	Resolvido
46		Falta de padronização na liberação de resultados.	Padronização de resultados nos laudos.	Resolvido
47		Lâminas de *imprints* não representativas. Amostras incompletas e/ou mal identificadas.	Treinamento dos médicos na confecção de *imprints* e encaminhamento de amostras.	Resolvido
48		Pedidos médicos fragmentados e/ou incompletos.	Criação de um pacote de exames de PLECT e treinamento dos médicos.	Resolvido
49		Cultura de fungos de raspados dérmicos não realizada.	Propor para a instituição a inclusão deste exame.	Pendente
50	RH	Ausência de secretária.	Redistribuição do serviço de secretaria realizado pelo técnico do setor para a secretaria do laboratório.	Resolvido
51		Ausência de técnico diário no setor.	Solicitada reposição do quadro de funcionário.	Resolvido

Fonte: Laboratório de micologia HEM, 2018 a 2020.

Os relatórios da Vigilância Sanitária (VISA) Nº130/2013, Nº 831453-71623/2015, Auto de Infração Nº 283313/2015 e Termo de Intimação Nº 280714/2015 foram consultados para verificar as não-conformidades pendentes, aplicadas pela VISA em visitas de inspeção sanitária ao laboratório de análises clínicas, para posterior resolução. Com os dados obtidos, foi elaborada uma planilha contendo as seguintes variáveis: Nº do item, grupo, item, legislação, responsável e *status* após intervenção, intitulada "Planilha de Notificações da VISA – Laboratório Micologia HEM, 2013 a 2015"**,** Quadro 2 (Anexo 02).

Seguem os itens notificados que se relacionam ao setor micologia, não resolvidos, separados por grupos: infraestrutura, acomodações, estrutura e condições ambientais 10/38 (26,32%); garantia da qualidade 8/38 (21,05%); biossegurança 7/38 (18,42%); equipamentos/instrumentos 5/38 (13,16%); processos 3/38 (7,89%); recursos humanos 3/38 (7,89%) e recepção, coleta e transporte 2/38 (5,26%). E suas respectivas governabilidades: bioquímico 20/38 (52,63%), diretoria, 17/38 (44,74%) e diretoria assistencial de serviços em saúde (DIRASS) 1 (2,63%). A Tabela 1 apresenta a distribuição desses itens.

Tabela 1: Grupo de inconsistências notificadas por governabilidades.

Grupo de inconsistências	**Bioquímico**	**Diretoria**	**DIRAAS**
Infraestrutura, acomodações, estrutura e condições ambientais *(n=10)*	4 (40,00 %)	6 (60,00 %)	0 (00,00%)
Garantia da qualidade *(n=8)*	7 (87,50%)	0 (00,00%)	1 (12,50%)
Biossegurança *(n=7)*	2 (28,57%)	5 (71,43%)	0 (00,00%)
Equipamentos/instrumentos *(n=5)*	1 (20,00%)	4 (80,00%)	0 (00,00%)
Processos *(n=3)*	2 (66,67%)	1 (33,33%)	0 (00,00%)
Recepção, coleta e transporte *(n=2)*	2 (100,00%)	0 (00,00%)	0 (00,00%)
Recursos humanos *(n=3)*	2 (66,67%)	1 (33,33%)	0(00,00%)

DIRAAS = diretoria assistencial de serviços em saúde. **Fonte:** Levantamento de notificações VISA, 2013 -2015.

Os dados demonstram que em aproximadamente 53% das inconsistências notificadas pela VISA a responsabilidade de solução é do responsável técnico pelo setor. Além disso, as notificações de resolubilidade do bioquímico abrangem todos os grupos, mas se evidenciam no grupo de garantia da qualidade 7/20 (87,50%). Enquanto os itens pertencentes à diretoria se concentram no grupo infraestrutura, acomodações, estrutura e condições ambientais 6/16 (60,00%), biossegurança 5/16 (71,43%) e equipamentos 4/16 (80,00%).

De acordo com a RDC Nº302, cabe à direção e ao responsável técnico do laboratório clínico a responsabilidade de planejar, implementar e garantir a qualidade dos processos. Além disso, estabelecer uma estrutura organizacional documentada com instruções escritas e atualizadas das rotinas técnicas implantadas, garantir a rastreabilidade de todos os

processos e assegurar a confiabilidade dos serviços laboratoriais prestados (ANVISA, 2005). Neste sentido, após a análise situacional e o levantamento das notificações da VISA, ações foram delineadas a fim de solucionar os problemas identificados cuja responsabilidade de resolução coubesse a atual bioquímica do setor de micologia. As ações priorizadas foram aquelas na qual a governabilidade pertencia a atual responsável do setor. A etapa inicial foi a **execução do programa 5s**, seguida de **implantação de fluxos de trabalho**, **padronização e treinamentos dos processos laboratoriais**, **alteração e incorporação de novas metodologias baseadas em evidências científicas**, **implementação de controles de qualidade** e, finalmente, a **atualização da planilha de notificações da VISA**, listando as inconsistências sanadas e as pendentes, argumentadas por normas e legislações, com as respectivas governabilidades.

O programa 5s baseado nos sensos de utilização, de ordenação, de limpeza, de saúde e de autodisciplina, foi aplicado ao setor de micologia que se encontrava bastante desorganizado. Objetos em desuso ou estragados e documentos arquivados por período superior a cinco anos, foram descartados. Um arquivo e um armário, que estavam enferrujados, foram substituídos por móveis novos de MDF. Um banco de madeira danificado foi restaurado. As caixas de papelão, utilizadas para o armazenamento, foram substituídas por caixas rígidas de plástico identificadas. Os armários, caixas, pastas, arquivos e lixeiras foram organizados e identificados corretamente com nomes e símbolos, quando necessário. Os papéis afixados nas paredes foram retirados e um quadro de aviso foi instalado. As Figuras 2 e 3 demonstram alguns itens citados antes das intervenções.

Figura 2: Laboratório de Micologia antes da reestruturação. A) Arquivo enferrujado, B) Banco mal conservado de madeira e C) Papéis afixados na parede.



Fonte: Setor micologia HEM, 2018.

Figura 3: Laboratório de Micologia antes da reestruturação. A) Bandeja de coleta enferrujada, B) Micropores abertos sem embalagens protetoras, C) Instrumentos cirúrgicos com validade de esterilização vencida e D) Gaveta de arquivo desorganizada com armazenamento de alimentos.



Fonte: Setor micologia HEM, 2018.

Após estas ações, solucionaram-se os itens nº 02 e nº 03 - presença de móveis enferrujados e uso de caixas de papelão para armazenamento, respectivamente, das inconformidades da análise situacional e os itens nº 22 – "as áreas técnicas e demais setores do laboratório não estão em boas condições de organização", nº 23 – "presença de papéis afixados nas paredes das áreas técnicas impedindo a correta limpeza e desinfecção das superfícies" e nº 24 – "os mobiliários, documentos e outros itens não são o estritamente necessários aos ensaios realizados nas áreas técnicas" das notificações da VISA. A seguir, Figura 4, o setor após as intervenções.

Figura 4: Setor micologia após ações de intervenções.



Fonte: Laboratório micologia HEM,2019.

Os fluxos de trabalho foram estabelecidos de modo a integrar o setor de micologia ao laboratório de análises clínicas, em especial ao setor de microbiologia, constituindo uma extensão deste. Definiu-se tanto a centralização do recebimento das amostras biológicas direcionadas à micologia, pelo setor de distribuição, quanto a centralização dos plantios micológicos pela microbiologia. Assim, o setor de distribuição, após receber as amostras, as direcionam para a microbiologia, neste as amostras são cultivadas em meios de culturas específicos para fungos. As amostras cultivadas e as amostras para as pesquisas são armazenadas, em temperatura ambiente e refrigeradas, respectivamente, na microbiologia e depois encaminhadas à micologia. O fluxo estabelecido contribuiu para aplicar o processo de recebimento, armazenamento e encaminhamento de amostras por meio dos **POP-CD- 001 Laboratório de apoio e Setor de distribuição** e **POP-MIC-014 Recepção de amostras biológicas e critérios de rejeição setor microbiologia** (Anexo 05 A e B), possibilitando a conferência da amostra e seu armazenamento adequado. Ademais, possibilitou o plantio imediato das amostras o que favorece o aumento da capacidade de recuperação do agente etiológico micológico. Por fim, a centralização das práticas contribui para assegurar o processamento das amostras evitando sua perda, item nº 37 da análise situacional.

Ao analisar as notificações da VISA aplicadas ao laboratório de análises clínicas do HEM, por meio do termo de intimação nº 280714, ano 2015, verifica-se que o órgão sanitário já havia detectado problemas referentes à recepção de amostras clínicas no laboratório, através dos itens de nº 34 e nº 35 – "não há procedimentos escritos, disponíveis nos diversos setores para orientar o recebimento, a coleta e a identificação das amostras, de acordo com os exames que realiza para o setor de microbiologia e micologia" e "advertido por não ter apresentado registros que permitam a rastreabilidade da hora do recebimento e/ou coleta da amostra."

Neste momento, é interessante atentar que mesmo após a implantação e treinamento do fluxo de recebimento, armazenamento e encaminhamento de amostras, outros problemas relacionados a este processo foram detectados. Os exames de cultura e PCRs para Leishmaniose visceral (LV) são encaminhados para a Fundação Ezequiel Dias (FUNED) e os de Leishmaniose tegumentar (LT) para o Centro de Pesquisas René Rachou. Constatou-se, por algumas vezes, resultados dos exames de PCR para leishmanioses não disponíveis no Gerenciador de Sistema Laboratorial (GAL), plataforma digital onde os laboratórios referências liberam os resultados de exames. Notou-se que, em algumas vezes, as amostras foram enviadas para o local incorreto, ou seja, amostras de LT enviadas para a FUNED e as de LV enviadas para o Centro de Pesquisas René Rachou. Houve casos que as amostras não chegaram a ser

enviadas e outros nos quais as amostras foram enviadas com o exame cadastrado incorretamente.

O ciclo de Deming da Qualidade demonstra que para atingir a qualidade final dos processos não basta apenas planejar e executar as ações para isso. São necessárias medidas contínuas nos processos que incluem a sua verificação seguidas por ações corretivas, quando necessárias (PEREIRA, 2014). No problema acima, verificou-se que as solicitações médicas realizadas no Sistema Integrado de Gestão Hospitalar (SIGH) não discriminavam o tipo de leishmaniose, só constava exame para *Leishmania* spp. De forma que, os funcionários da distribuição tinham que deduzir, pela amostra clínica, de qual exame se tratava. A primeira intervenção foi incluir no SIGH, as duas opções: exames para Leishmaniose tegumentar (LT) e para Leishmaniose visceral (LV). E em seguida, treinar os setores de distribuição e secretaria quanto ao cadastro correto dos exames, procedimentos estes que foram atualizados no **POP-CD- 001 Laboratório de apoio e Setor de distribuição** (Anexo 05 A).

Outro ponto relevante é que os exames de PCR para LT, não são enviados para o Centro de Pesquisas René Rachou quando chegam ao laboratório. Eles são armazenados no freezer e, após a triagem dos resultados de pesquisa e culturas de LT, como resultados negativos, é que são enviados. Dessa forma, o envio só ocorre após, aproximadamente, vinte e um dias da coleta. Para otimizar este processo, criamos o pacote de exames de PLECT com pesquisas de fungos, pesquisas de leishmaniose tegumentar, pesquisas de micobactérias, cultura de fungos e cultura de micobactérias, com apenas os exames realizados no laboratório do HEM. Para a cultura de LT e para o PCR de LT, instruímos os médicos a solicitarem os exames em pedidos individuais, uma vez que são encaminhados para laboratórios de apoio. A separação dos exames em diferentes pedidos facilita o seu direcionamento aos laboratórios externos.

No segundo semestre de 2019, o setor de micologia teve o cargo de técnico em patologia reposto e seu funcionamento passou a ser de segunda a sexta-feira, diariamente. Esta reposição, além de beneficiar os pacientes, que poderiam realizar coletas micológicas no mesmo dia de sua consulta médica, possibilitou a organização do trabalho no setor. As funções do setor foram distribuídas entre os três técnicos de modo a obter a responsabilização de cada funcionário, o que de certa forma, contribui para o trabalho em equipe. Foram criados fluxos para processos simples (Anexo 06), mas de extrema importância para o bom funcionamento do setor como: fluxo para requisição e busca de materiais de almoxarifado, fluxo de solicitação de frascos para exames anatomopatológicos, fluxo de imuno-histoquímica, fluxo de limpeza do

setor, fluxo diário de registro de temperaturas, fluxo de busca de amostras biológicas na microbiologia e fluxos para o encaminhamento de amostras para laboratórios externos. Assim, teve-se como resolvido o item nº 38 da planilha de notificações da VISA- "Advertido por não providenciar pessoal em quantidade suficiente para atender à demanda dos serviços."

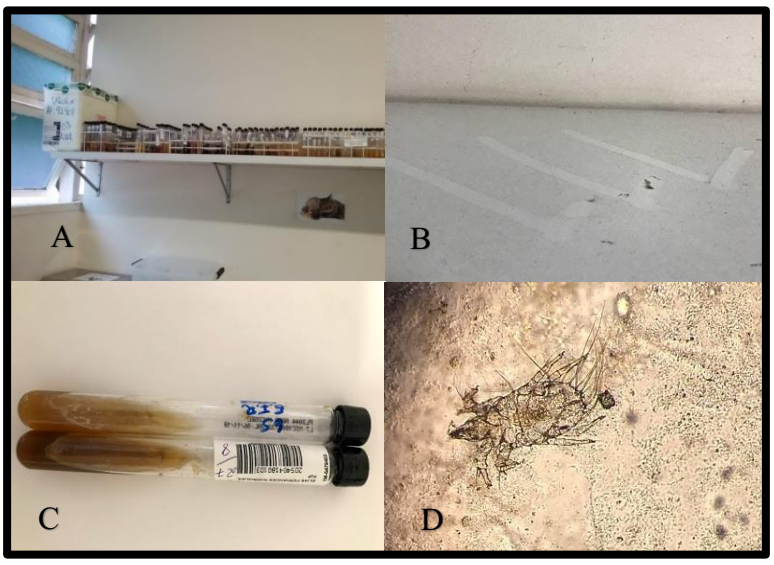
Os itens nº18, nº19 e nº31, do quadro de notificações da VISA, referem-se aos procedimentos escritos que não estão atualizados e aos que estão faltando. Os POPs atualizados foram: **POP 01- Coleta de Hanseníase**, **POP 02, Coloração para Hanseníase**, **POP 04 - Baciloscopia em Hanseníase - indíce baciloscópico (IB)**, **POP 08 - Pesquisa direta de fungos**, **POP 11 - Cultura de fungos** e **POP 12 - Cultura de Micobactérias** (Anexo 05 C a L). Já os POPs instituídos foram: **POP 03 - Coloração de exames direto para Leishmaniose, POP 05 - Fluxo de anatomopatológicos**, **POP 06 - Fluxo de Revisão de Lâminas**, **POP 07 - Coloração Panótico**, **POP 09 - Fluxo de PCR para Leishmaniose tegumentar e visceral** e **POP 10 - Fluxo resistência medicamentosa em Hanseníase** (Anexo 05 C a L). Resolveu-se, dessa forma, os itens, citados acima das notificações da VISA e os de nº13, nº14 e nº17, da análise situacional. Em seguida, os procedimentos escritos foram apresentados à equipe do setor por meio de um treinamento teórico (Anexo 07), de modo a atender ao item nº 36 - "Não há registros dos treinamentos dos funcionários informando data, horário, carga horária, conteúdo ministrado, nome e formação profissional do instrutor e nome dos trabalhadores envolvidos," das notificações da VISA.

Em relação aos programas de capacitação e a educação continuada, primeiro foi necessário o aperfeiçoamento profissional da atual bioquímica responsável pelo setor micologia. Como mencionado anteriormente, com a nova gestão, o setor tornou-se responsável pelos exames micológicos, de leishmanioses, de hanseníase e de micobactérias. **Os processos referentes às micobactérias foram estabelecidos no ano de 2016 quando esta demanda pertencia ao setor de microbiologia, a partir de capacitações realizadas pela FUNED. Na parte micológica, podemos citar a disciplina de micologia médica na Faculdade de Farmácia da UFMG, em 2016. Os treinamentos de leishmanioses ocorreram no Centro de Pesquisas Rene Rachou – Fiocruz em 2018 e na FUNED em 2019, além da capacitação em hanseníase no Instituto Lauro de Souza Lima, em 2018** (Anexo 08 A, B. C, E e F).

Considerando a garantia da qualidade do setor micologia detectamos que ele foi notificado pela VISA, nos itens Nº 13 – "Advertido por não monitorar a temperatura ambiente de acordo com os procedimentos escritos definidos pelo laboratório no processo analítico dos

exames micológicos" e Nº 14 – "Não há análise crítica dos registros efetuados em planilhas e demais documentos utilizados para monitoramento, de acordo com a faixa de variação aceitável definida." E o grupo, infra-estrutura, acomodações e condições ambientais, item Nº 21 - "Não há registros do monitoramento e condições ambientais que possam influenciar adversamente o resultado dos ensaios. Sem registro da ação corretiva no caso de desvio da temperatura ambiente." Percebe-se, pelas notificações, a falta de registro da temperatura de incubação das culturas micológicas e a análise crítica de acordo com a faixa de variação aceitável definida. As culturas micológicas eram incubadas em uma prateleira à temperatura ambiente, no setor da micologia (Figura 5 A). A sala da micologia não contava com um sistema de ar-condicionado além disso, a luz do sol incidia diretamente, em determinado período do dia, nas culturas de fungos. Em adição a estes fatos, pode-se citar ainda a presença de poeira (Figura 5 B) e ácaros (Figura 5 D) que estavam contribuindo para a contaminação das culturas (Figura 5 C), em incubação. Devido às condições desfavoráveis do ambiente para a incubação das culturas e à falta de perspectivas para adequação destas a curto prazo, a opção foi a mudança da incubação das culturas para uma sala, dentro do setor de microbiologia, com condições mais favoráveis à incubação, apesar de não ser em estufa com temperatura controlada. Atualmente, as culturas são incubadas na sala mencionada acima em uma prateleira na microbiologia (Figura 6), em ambiente com temperatura controlada e sem incidência da luz solar. A temperatura de incubação das culturas é verificada, diariamente, por um termohigrômetro e registrada em planilha específica, conforme (Anexo 09).

Figura 5: Local de incubação das culturas de fungos antes da reestruturação. A) Prateleira, local de incubação dos fungos no setor de micologia, à temperatura ambiente, próximo a janela e incidência da luz solar, B) Poeira na prateleira, C) Cultura de fungos contaminada e D) Microscopia da cultura, aumento de 10 x, mostrando ácaro.



Fonte: Setor micologia HEM, 2018.

Figura 6: Local atual de incubação das culturas fúngicas à temperatura ambiente, em sala na microbiologia.



Fonte: Laboratório de microbiologia HEM, 2019.

Os itens Nº 15, Nº 16 e Nº 20 – **"**Não há procedimentos escritos para o CIQ, definindo a forma de controle e a frequência de sua utilização, para todos os analitos dos diversos setores", "Não há registros do monitoramento do processo analítico, por meio de amostras controle, e análise dos dados para todos os analitos" e "Advertido por não ter apresentado procedimentos escritos para o CIQ, definindo a forma de controle e a frequência de sua utilização, para os seguintes exames: testes micológicos e corantes da micologia", respectivamente, foram resolvidos. O setor de micologia realiza, trimestralmente, o controle de qualidade externo por meio de ensaios de proficiência do Programa Nacional de Controle de Qualidade – PNCQ, para determinação de amostras-controle micológicas, desde outubro de 2015. (Anexo 10 A, B E C). E, além disso, envia lâminas coradas pelo método Panótico do exame Pesquisa de Leishmaniose tegumentar para a revisão microscópica no Centro de Pesquisas René Rachou (Anexo 10 D). No entanto, o setor não apresentava procedimentos escritos instituídos para o CQI, definindo a forma de controle e a frequência de sua utilização para os exames micológicos. Por conseguinte, implementou-se a planilha de rastreabilidade dos *kits* de coloração dos corantes utilizados e da solução de KOH. E estabeleceu o controle de qualidade interno mensal destes corantes e solução de KOH (Anexo 11).

O grupo infraestrutura, acomodações, estrutura e condições ambientais foi o grupo com o maior número de notificações das quais 40% a governabilidade, de solução, pertence à bioquímica responsável do setor de micologia e o restante, 60%, à diretoria do hospital. Os itens relacionados a organização do ambiente de trabalho foram sanados pela bioquímica responsável. Dentre os quais podemos citar os de nº 21, nº1 9, nº 23 e nº 24 que se referem à,

respectivamente, “Não há registros do monitoramento e condições ambientais que possam influenciar adversamente o resultado dos ensaios. Sem registro da ação corretiva no caso de desvio da temperatura ambiente”; “As áreas técnicas e demais setores do laboratório não estão em boas condições de organização”; “Presença de papéis afixados nas paredes das áreas técnicas impedindo a correta limpeza e desinfecção das superfícies;” “Os mobiliários, documentos e outros itens não são os estritamente necessários aos ensaios realizados nas áreas técnicas.” No entanto, 60% dos itens deste grupo, encontram-se pendentes como os de nº 25 - “Não há separação física adequada entre as áreas vizinhas onde são realizadas atividades incompatíveis”; nº 26 - “Advertido por não manter as paredes do laboratório com acabamento resistente, de fácil limpeza e em bom estado de conservação nos setores técnicos”; nº 27 - “Advertido por não disponibilizar instalações sanitárias adequadas para o atendimento de portadores de necessidades especiais”; nº 28 - “Advertido por não providenciar lavatórios exclusivos para higiene das mãos com torneiras ou comandos que dispensem o contato manual”; nº 29 - “Advertido por não providenciar bancadas, balcões, mesas, armários e demais mobiliários de material liso, impermeável e de fácil limpeza. Advertido por manter mobiliários e bancadas de madeira em vários setores da área técnica.” nº 30 - “A área física não é suficiente para atender à demanda do serviço.”

Já o grupo de biossegurança apresentou 7 notificações pela VISA, das quais 2 (28,57%) são de responsabilidade do bioquímico e 5 (71,43%) da diretoria. Os itens nº 4 e nº 5 que são: “Não há disponibilidade das seguintes fichas de informação de segurança de produtos químicos (FISPQ)” e “Não há registros de treinamento do pessoal relativo à utilização das FISPQ de alguns funcionários” foram resolvidos, ficando a deslindar as de nº1- “As instalações e os equipamentos utilizados não são condizentes com o nível de biossegurança dos diversos setores - cultivo de micobactérias: estufas próprias e certificadas e centrífuga com caçapas de segurança,” nº 2 - **“**Não há controle do acesso às áreas restritas,” nº 3 - “A área física não é adequada aos níveis de biossegurança dos diversos setores,” nº 6 – **“**Advertido por não disponibilizar os seguintes equipamentos de proteção coletiva (EPC): chuveiro de segurança, lava olhos, assim como, os registros de funcionamento periódico dos mesmos” e nº7 “Advertido por não ter apresentado registros de troca periódica dos filtros do sistema de ar condicionado e não possuir condições de ventilação satisfatórias.”

A Tabela 2 apresenta a distribuição da responsabilidade de resolução das inconsistências notificadas e de como se encontram agora. E a Tabela 3 demonstra a

distribuição dos grupos das inconsistências notificadas após a reestruturação do setor micologia.

Tabela 2: Distribuição da responsabilidade de resolução das inconsistências notificadas e o status atual.

Responsável	Itens sanados	Itens pendentes
Bioquímico (*n= 20*)	18 (90,00 %)	2 (10,00 %)
Diretoria (*n=17*)	2 (11,76 %)	15 (88,24 %)
DIRAAS (*n=1*)	0 (0,00%)	1 (71,43 %)

DIRAAS = diretoria assistencial de serviços em saúde. **Fonte:** Levantamento de notificações VISA, 2013 -2015.

Tabela 3: Distribuição dos grupos das inconsistências notificadas após a reestruturação do setor micologia.

Grupo de inconsistências	Itens sanados	Itens pendentes
Infraestrutura, acomodações, estrutura e condições ambientais (*n=10*)	4 (40,00 %)	6 (60,00 %)
Garantia da qualidade (*n=8*)	7 (87,50 %)	1 (12,50 %)
Biossegurança (*n=7*)	2 (28,57 %)	5 (71,43 %)
Equipamentos/instrumentos (*n=5*)	1 (20,00 %)	4 (80,00 %)
Processos (*n=3*)	2 (66,67 %)	1 (33,33 %)
Recepção, coleta e transporte (*n=2*)	2 (100,00 %)	0 (0,00 %)
Recursos humanos (*n=3*)	2 (66,67 %)	1 (33,33%)

Fonte: Levantamento de notificações VISA, 2013 -2015.

Assim, as atuações de gestão laboratorial, exercidas pela bioquímica e autora deste trabalho, possibilitaram melhorias no serviço de micologia, sobretudo nos itens de sua responsabilidade, especificados na Tabela 01. Logo, a partir da Tabela 02, verifica-se que 18/20 (90%) dos itens em desacordo com a VISA foram resolvidos pela bioquímica. Já as intervenções corretivas da diretoria ficaram restritas a 2/17 (11,76 %) dos itens e o único item de responsabilidade da DIRAAS manteve-se a resolver. A seguir, na Tabela 03, lista-se a porcentagem de itens resolvidos, em ordem decrescente: Recepção, coleta e transporte 2/2 (100%); Garantia de qualidade 7/8 (87,50%); Processos e Recursos humanos 2/3 (66,67 %); Infraestrutura, acomodações, estrutura e condições ambientais 4/10 (40,00%); Biossegurança 2/7 (28,57%) e Equipamentos/instrumentos 1/5 (20,00%). Visto isso, pode-se concluir que as questões relacionas à Infraestrutura, acomodações, estrutura e condições ambientais; Biossegurança e Equipamentos/instrumentos permanecem com grande parte de itens a resolver.

5.2 Estudo epidemiológico

O estudo epidemiológico das micoses sistêmicas e subcutâneas do HEM foi realizado com a intenção de *se obter indicadores que sirvam de suporte ao planejamento, administração e avaliação das ações de saúde* na instituição. Os quais podem ser definidos também como indicadores de qualidade (IQ), por se tratarem de uma informação, qualitativa ou quantitativa, capaz de avaliar mudanças em todas as etapas da análise laboratorial ao longo do tempo e verificar as metas de qualidade definidas, para tomar as decisões e escolhas corretas (UNI 11097). Sucedeu-se, dessa forma, um estudo descritivo por meio da verificação da frequência e distribuição das variáveis presentes nos atendimentos dos exames laboratoriais que continham cultura de fungos.

A frequência das variáveis categóricas permitiu esboçar o panorama dos exames micológicos na instituição e ainda identificar os aspectos de interesse do presente estudo. Foram considerados um total de 6327 resultados de exames, realizados no período de 2014 a 2019. A coleta de dados foi direcionada ao exame de cultura de fungos, no entanto, outros exames realizados no atendimento, também foram considerados. A Tabela 4 lista as amostras analisadas e os exames realizados com os respectivos resultados.

Tabela 4: Frequência dos exames para fungos, micobactérias e leishmanioses nos atendimentos selecionados no período de 2014 a 2019 (continua).

Variáveis	n	%
Amostra (n= 6327)		
Líquidos Corporais	1826	28,86%
Sangue	1647	26,03%
Amostra Respiratória	1253	19,80%
Aspirado de medula óssea	591	9,34%
Pele	553	8,42%
Linfonodo	299	4,73
Biópsias	101	1,60%
Mucosas	50	0,79%
Secreções	27	0,47%
Cultura de fungos (Sabouraud + Mycosel) (n=5467)		
Candida spp.	325	5,95%
*Cryptococcu*s spp.	242	4,43%
Histoplasma spp.	59	1,08%
Sporothrix spp.	59	1,08 %
*Paracoccidioide*s spp.	21	0,38%
Fungos filamentosos	19	0,35%
Rhodotorula spp.	6	0,11%
Actinomicetos	3	0,05%

Tabela 4: Frequência dos exames para fungos, micobactérias e leishmanioses nos atendimentos selecionados no período de 2014 a 2019 (continuação).

Variáveis	n	%
Não realizada	53	0,97%
Interrompida por contaminação	881	16,11%
Negativa	3799	64,49%
Exame micológico direto a fresco (n=1910)		
Células leveduriformes e hifas	9	0,47%
Paracoccidioides spp.	9	0,47%
Cryptococcus spp.	2	0,10%
Não realizado	1459	76,39%
Negativo	431	22,57
Tinta da China (n=1431)		
Cryptococcus spp.	204	14,26%
Não realizado	2	0,17%
Negativo	1225	85,60%
Pesquisa Panótico (n=2756)		
Células leveduriformes e hifas	262	9,51%
Histoplasma spp.	20	0,73%
Paracoccidioide spp.	17	0,62%
Cryptococcus spp.	5	0,18%
Sporothrix spp.	2	0,07%
Leishmaniose tegumentar	57	2,07%
Leishmaniose visceral	118	4,28%
Não realizado	47	1,17%
Negativo	2228	80,84%
Pesquisa de bacilo álcool ácido resistente – BAAR (n=3991)		
Positivo	126	3,16%
Não realizado	28	0,70%
Negativo	3837	96,14%
Hemocultura (n=1314)		
Bactérias	109	8,30%
Cryptococcus spp.	33	1,22%
Candida spp.	22	1,67%
Sporothrix spp.	3	0,23%
Fusarium spp.	1	0,08%
Prototheca spp.	1	0,08%
Interrompida por contaminação	16	1,22%
Negativo	1129	85,92%
MYCO/F (MFL) (n=685)		
Micobactérias	7	1,02%
Cryptococcus spp.	2	0,29%
Candida spp.	1	0,15%
Interrompida por contaminação	61	8,91%
Não realizado	106	15,47%
Negativo	508	74,16%

Tabela 4: Frequência dos exames para fungos, micobactérias e leishmanioses nos atendimentos selecionados no período de 2014 a 2019 (conclusão).

Variáveis	n	%
Cultura de micobactérias (n= 4155)		
Micobactérias	119	2,86%
Interrompida por contaminação	113	2,72%
Não realizado	42	1,01%
Negativo	3881	93,41%

Fonte: Epidemiologia serviço laboratorial HEM, 2014-2019.

A análise da frequência das amostras utilizadas nas culturas de fungos demonstra que os líquidos corporais representam a maioria das amostras analisadas no total de 1826 (28,86%), seguida por sangue com 1647 (26,03%) e amostras respiratórias com 1253 (19,80%). Já as com menos solicitações podemos listar: secreções com 27 (0,47%), mucosas com 50 (0,79%) e biópsias com 101 (1,60%). As amostras biópsias se referem a uma identificação incompleta de determinada amostra biológica uma vez que, não se referem ao seu local de origem.

O estudo das culturas de fungos pelo método clássico, cultivo em ágar Sabouraud e Mycosel, incubados à temperatura ambiente, apresentou 3799 resultados negativos que correspondem à 64,49% dos resultados. Em seguida, com 881 (16,11%) foram as culturas fúngicas interrompidas por contaminação. Em relação às culturas positivas, os fungos mais frequentes foram *Candida* spp. em 325 (5,95%) e *Cryptococcus* spp. em 242 (4,43%). *Histoplasma* spp. e *Sporothrix* spp. foram isolados em 59 (1,08%) casos e *Paracoccidioides* ssp. posteriormente, em 21 (0,38%).

O exame micológico direto a fresco não era realizado sempre que solicitado. Percebe-se que, em um total de 1910 solicitações de pesquisas de fungos, o presente método só foi realizado em 451 (23,61%) pesquisas. Além disso, sua taxa de positividade é muito baixa, correspondendo a 20 (1,04%) dos exames. No entanto, os fungos visualizados neste método são células leveduriformes, hifas e leveduras.

A pesquisa micológica direta com a tinta da China apresentou apenas dois casos de exames não realizados 0,17% num total de 1431 solicitações. Nota-se, também, que a maioria dos resultados 1225 (85,60%) são negativos. O método detecta apenas *Cryptococcus* spp., por se tratar de metodologia específica para este agente (ANVISA, 2013a).

O método Panótico é utilizado para pesquisa de fungos e leishmanioses em amostras de *imprints* (ANVISA, 2013a). Infere-se que este é o método mais utilizado, no

laboratório do HEM, nas solicitações de pesquisas de fungos comparado ao exame micológico direto a fresco, pois, sua taxa de exames não realizados é de 1,17%, 47 exames em um total de 2756. Através dele, identifica-se células leveduriformes e hifas 262 (9,51%), *Cryptococcus* spp. 5 (0,18%), *Histoplasma* spp. 20 (0,73%), *Paracoccidioides* spp. 17 (0,62%), *Sporothrix* spp. (2) 0,07% e leishmaniaose tegumentar 57 (2,07%) e visceral 118 (4,28%), respectivamente. Grande parte destes exames 2228 (80,84%) apresentam resultados negativos.

A pesquisa de bacilo álcool ácido resistente (BAAR) foi a que apresentou um maior número de solicitações, dentre as pesquisas, 3991 exames realizados. Os exames não realizados foram 28 (0,70%) e os resultados negativos 3837 (96,14%).

Para a cultura de fungos em amostras de sangue o laboratório do HEM utilizou três metodologias distintas no período de 2014 a 2109. No ano de 2014 a março de 2016 a metodologia utilizada foi o meio líquido de cultura MYCO/F (MFL), da Becton Dickinson, desenvolvido para o aparelho de hemocultura automatiza o BACTEC 9240 com a capacidade de recuperar micobactérias, fungos, em especial o *Histoplasma capsulatum*, e bactérias de amostras sanguíneas (FULLER et al., 2001). De março a dezembro de 2016, utilizou-se o meio de cultura líquido aeróbico, hemocultura aeróbica, utilizados para o cultivo de bactérias, metodologia automatizada BacT/ALERT®, da bio Meriéux. E no ano de 2017 a 2019 as culturas de fungos de sangue foram realizadas pelo método clássico, em meio sólido de ágar Sabouraud e ágar Mycosel.

Para um melhor entendimento das três metodologias utilizadas para as amostras de sangue, estratificou-se as culturas de fungos por metodologia, excluiu-se os exames não realizados e, a seguir, na Tabela 5 a representação das frequências obtidas:

Tabela 5: Resultados de exames para fungos de amostras de sangue por metodologias distintas (continua).

Cultura de fungos em amostras de sangue	**n**	**%**
Hemocultura aeróbica (n=1314)		
Bactérias	109	8,30%
Cryptococcus spp.	33	2,51%
Candida spp	22	1,67%
Sporothrix spp	3	0,23%
Prototheca spp	1	0,08%
Fusarium spp	1	0,08%
Staphylococcus spp coagulase negativo	16	1,22%
Negativo	1129	85,92%

Tabela 5: Frequência dos exames para fungos de amostras de sangue por metodologias distintas (conclusão).

Cultura de fungos em amostras de sangue	n	%
MYCO/F (MFL) (n=579)		
Micobactérias spp.	7	1,21%
Cryptococcus spp.	2	0,35%
Candida spp.	1	0,17%
Staphylococcus spp. coagulase negativo	61	10,53%
Negativo	508	87,74%
Cultura de fungos (Sabouraud + Mycosel) (n=799)		
Histoplasma spp.	25	3,13%
Cryptococcus spp.	7	0,88%
Candida spp.	2	0,25%
Paracoccidioides spp.	3	0,38%
Fungos filamentosos	2	0,25%
Sporothrix spp.	1	0,13%
Interrompida por contaminação	66	8,26%
Negativo	693	86,73%

Fonte: Epidemiologia serviço laboratorial HEM, 2014-2019.

Ao analisar a frequência dos resultados das três metodologias percebe-se que todas possuem uma porcentagem de resultados negativos bem próximos. Sendo igual a 85,92% (1129) para hemocultura, 87,74% (508) para a MYCO/F (MFL) e 86,73% (693) para cultura em ágar Sabouraud e Mycosel. Sabe-se que a contaminação das culturas fúngicas está associada tanto ao crescimento de células bacterianas, que apresentam um crescimento exponencial, contribuindo para a inibição do crescimento fúngico, como também à inserção acidental de fungos saprófitas (ANVISA, 2013a). A partir dessas informações, a cultura de fungos pelas metodologias de hemocultura e MYCO/F (MFL), por se tratarem de sistemas fechados a vácuo, sofrem interferência de contaminações bacterianas, que podem ser de origem infecciosa, ou devido à assepsia inadequada no momento da coleta de sangue, o que favorece o crescimento de bactérias colonizantes da pele como *Staphylococcus* spp. coagulase negativo (ANVISA, 2013b). A contaminação da cultura fúngica, na hemocultura, apresenta-se estratificada em bactérias em 8,30% e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo em 1,22%, cuja soma é igual à 9,52%. No MYCO/F (MFL) a contaminação das culturas fúngicas refere-se ao crescimento de *Staphylococcus* spp. coagulase negativo em 10,53% e ao crescimento de micobactérias em 1,21%, em um total de 11,74%. E finalmente, a contaminação das culturas fúngicas, no método Sabouraud e Mycosel, é igual 8,26%, no entanto o tipo da contaminação não está estratificado em contaminações bacterianas e fúngicas.

Na hemocultura aeróbica, isolaram-se os fungos: *Cryptococcus* spp. 33 (2,51%), *Candida* spp. 22 (1,67%), *Sporothrix* spp. 3 (0,23%), *Prototheca* spp. 1 (0,08%) e *Fusarium*

spp. 1 (0,08%). No MYCO/F (MFL) *Cryptococcus* spp. 2 (0,35%) e *Candida* spp. 1 (0,17%) E na cultura clássica de fungos, *Histoplasma* spp. 25 (3,13%), *Cryptococcus* spp. 7 (0,88%), *Paracoccidioides* spp. 3 (0,38%), *Candida* spp. 2 (0,25%), *Sporothrix* spp. 1 (0,13%), e fungo filamentoso, porém não identificado 2 (0,25%).

As frequências das culturas de fungos pela metodologia hemocultura aeróbia, sugerem uma predominância de crescimento de fungos leveduriformes, como *Candida* spp. e *Cryptococcus* spp. Enquanto na cultura clássica, o principal fungo isolado, na forma filamentosa, foi *Histoplasma* spp*.,* agente fúngico isolado, exclusivamente, nesta metodologia*.* O MYCO/F (MFL) detectou apenas *Candida* spp. e *Cryptococcus* spp., ambos com baixas porcentagens.

Tendo em vista as informações apresentadas, caracterizadas pela predominância de leveduras na hemocultura aeróbia, e de formas filamentosas no Sabouraud e Mycosel, investigou-se a existência de culturas de fungos de amostras sanguíneas que haviam sido analisadas por estes dois métodos, simultaneamente, para uma análise mais detalhada. Encontrou-se um total de 596 amostras, os resultados das culturas nas metodologias estudadas seguem na Tabela 6.

Tabela 6: Resultados de exames para cultura de fungos em amostras de sangue por metodologias pareadas.

Cultura de fungos de amostras sanguíneas	n (%)	(IC 95) %
Hemocultura aeróbia (n= 596)		
*Cryptococcu*s spp.	5 (0,84%)	(0,36 - 1,95) %
Candida spp.	2 (0,34%)	(0,09 - 1,22) %
Sporothrix spp.	1 (0,17%)	(0,03 - 0,94) %
Bactérias	61(10,23%)	(8,05 - 12,93) %
Interrompida por contaminação	2 (0,34%)	(0,09 - 1,22) %
Negativa	525 (88,09%)	(85,24 - 90,45) %
Cultura de fungos Sabouraud e Mycosel (n=596)		
Histoplasma spp.	18 (3,02%)	(1,92 - 4,72) %
*Cryptococcu*s spp.	6 (1,01%)	(0,46 - 2,18) %
*Paracoccidioide*s spp.	3 (0,50%)	(0,17 - 1,47) %
Sporothrix spp.	1 (0,17%)	(0,03 - 0,94) %
Filamentosos não identificados	2 (0,34%)	(0,09 - 1,22) %
Interrompida por contaminação	53 (8,89%)	(6,86 - 11,45) %
Negativa	513 (86,07%)	(83,06 - 88,62) %

Fonte: Epidemiologia serviço laboratorial HEM, 2014-2019.

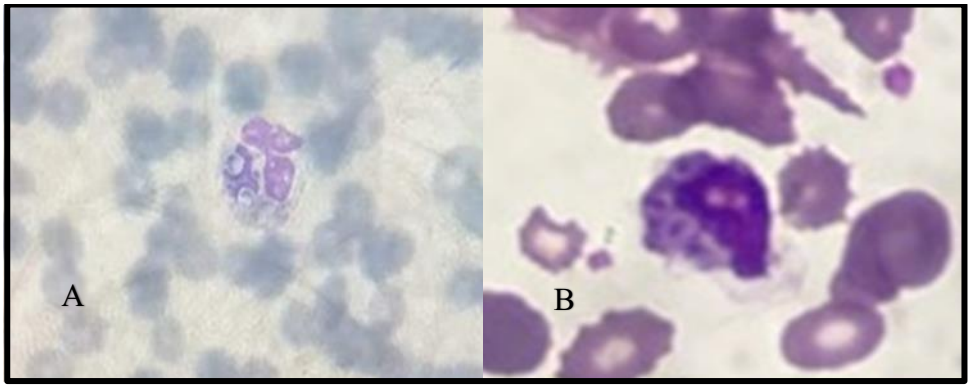
Avaliou-se o resultado das culturas de fungos de sangue de 596 amostras. Destes pacientes, 18 tiveram o diagnóstico para Histoplasmose, com o seguinte perfil de positividade: hemocultura aeróbica 0 % (0/596) e Sabouraud e Mycosel 3,02% (18/596). Para Criptococose

foram 6 pacientes: hemocultura aeróbica 0,84% (5/596) e Sabouraud e Mycosel 1,01% (6/596). Paracoccidiodomicose, total de 3 casos, sendo hemocultura aeróbica 0% (0/596) e Sabouraud e Mycosel 0,50% (3/596). Já a esporotricose, foi apenas 1 caso, que foi identificado nos dois métodos, simultaneamente, com 0,17% (1/596). Nota-se que pacientes com candidemia, só foram identificados na hemocultura aeróbica 0,34% (2/596) e no Sabouraud e Mycosel 0% (0/596). Para o método Sabouraud e Mycosel, o crescimento bacteriano é reportado como contaminação da cultura fúngica, diferente da hemocultura aeróbica que constituí um método específico para o isolamento e identificação de bactérias.

Nota-se que a maioria dos resultados se apresentaram como negativos nas duas metodologias. *Histoplasma* spp. e *Paracoccidioiddes* spp. só foram isolados no Sabouraud e Mycosel, enquanto a *Candida* spp. apenas na hemocultura aeróbica. Ressalta-se que a positividade aqui apresentada não reflete a sensibilidade geral das metodologias, mas sim a positividade nos pacientes com realização de culturas de sangue nos dois métodos. O teste de Teste de Mac Nemar foi aplicado para observar a correlação das metodologias estudadas, porém o teste apresentou-se inválido para o estudo proposto. Seria necessário estabelecer um estudo comparativo entre as duas técnicas para verificar, em especial, a capacidade de isolamento de leveduras e fungos filamentosos na hemocultura e no Sabouraud e Mycosel de amostras sanguíneas.

E pertinente mencionar que os primeiros isolamentos do fungo *Histoplasma* spp. no sangue, em dois pacientes internados no HEM, ocorreu após a visualização ocasional de células leveduriformes pequenas (3 a 5µm de diâmetro), ovaladas e gemulação única, no interior de polimorfonucleares neutrófilos e de macrófagos (Figura 7 A e B) na análise hematoscópica através da microscopia ótica por imersão, em esfregaços sanguíneos. Para confirmar a hipótese diagnóstica, amostras sanguíneas destes pacientes, foram colhidas e semeadas à beira do leito em ágar Sabouraud e Mycosel, cultivadas à temperatura ambiente e monitoradas por 30 dias. No 12º dia, detectou-se o crescimento da forma filamentosa do fungo. No entanto, a visualização da estrutura patognomônica macroconídeos tuberculados, cobertos por projeções espiculadas (FERREIRA e BORGES, 2009), só foi possível após o 22º dia de incubação. Na ocasião, ambos pacientes tinham solicitação do exame de cultura de fungos de sangue em andamento com resultados negativos na metodologia hemocultura aeróbica automatizada, técnica padronizada no HEM.

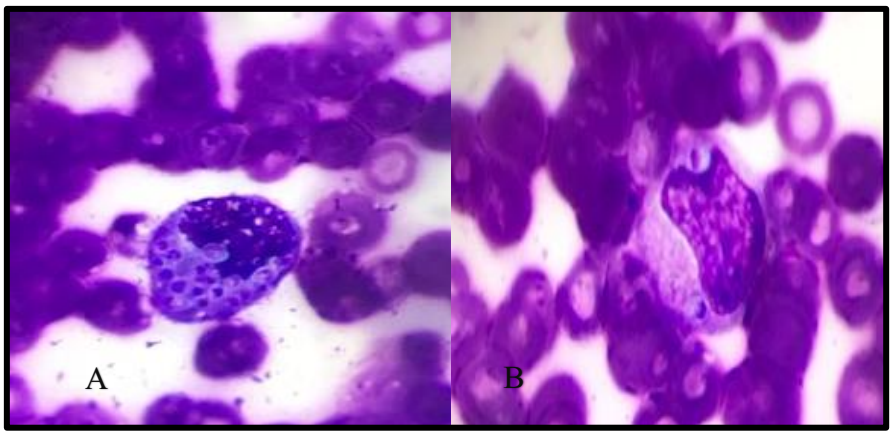
Figura 7: Diagnóstico micológico de *Histoplasma* spp. no sangue: A) Células leveduriformes intra-citoplasmáticas visualizadas no exame diferencial de leucócitos em esfregaço sanguíneo, coloração de Panótico, x 100, paciente 1; B) Células leveduriformes intra-citoplasmáticas visualizadas no exame diferencial de leucócitos em esfregaço sanguíneo, coloração de Panótico, x 100, paciente 2.



Fonte: Laboratório de Micologia HEM, 2016.

No segundo caso clínico apresentado, exames de culturas micológicas de amostras do trato respiratório superior e do aspirado de medula óssea foram solicitados pelo médico responsável, após a comunicação da presença do agente fúngico nas células sanguíneas pelo laboratório do HEM. A seguir, na Figura 8 A e B, células leveduriformes intracitoplasmáticas visualizadas na pesquisa de fungos do aspirado de medula óssea pela coloração de Panóptico.

Figura 8: Diagnóstico micológico de *Histoplasma* spp. no aspirado de medula óssea (AMO): A e B) Células leveduriformes intra-citoplasmáticas visualizadas no esfregaço do aspirado de medula óssea (AMO) na coloração Panótico, x100;

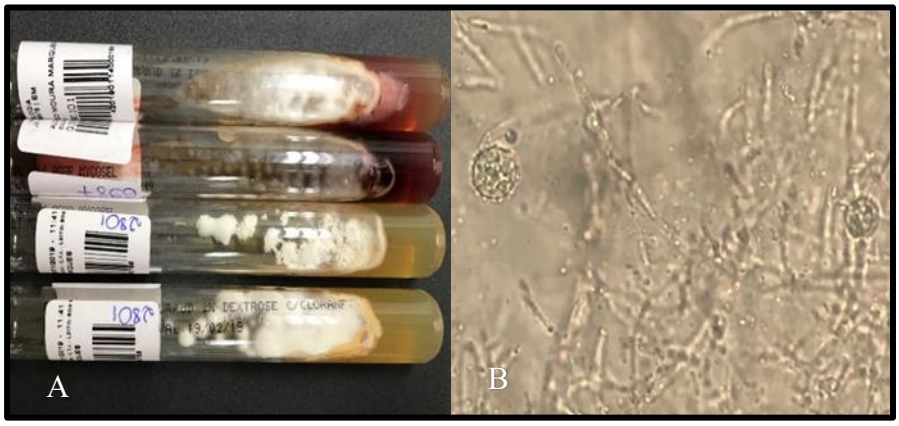


Fonte: Laboratório de Micologia HEM, 2016.

Já a Figura 9 A, demonstra o crescimento de fungo filamentoso, a temperatura ambiente, na forma de uma colônia branca aérea, proveniente de amostras do trato respiratório

e do aspirado de medula óssea. E na Figura 9 B, o micélio hialino, ramificado e septado além de microconídeos e macroconídeos tuberculados, cobertos por projeções espiculadas, na visualização ao microscópio ótico no aumento de 40x (ANVISA, 2013a). Assim, após este fato, crescimento do fungo em ágar Sabouraud e Mycosel e o não crescimento em hemocultura automatizada, o primeiro método citado foi padronizado para cultura de fungos em amostras sanguíneas na instituição.

Figura 9: Diagnóstico de *Histoplasma* spp. por cultura clássica: A) Fungo filamentoso em meio de cultura Sabouraud e Mycosel de aspirado de medula óssea e amostra respiratória; B) Hifas septadas hialinas e macroconídeos tuberculados, do fungo filamentoso, em microscópio óptico no aumento de 40 x.



Fonte: Laboratório de Micologia HEM, 2016.

Em continuidade ao estudo pretendido, estratificou-se por ano os sítios das amostras biológicas utilizadas nas culturas de fungos, a fim de se observar possíveis alterações na demanda do serviço microbiológico do HEM no decorrer do tempo, conforme Tabela 7.

Observa-se que amostras de líquidos corporais e amostras sanguíneas são as mais solicitadas, respectivamente, ao longo dos anos para o exame de cultura de fungos. A soma destas últimas, na maioria dos anos, compõe por volta da metade dos nove tipos de amostras cultivadas em cada ano. O restante das amostras varia pouco, exceto para as amostras de pele que tiveram um aumento considerável a partir de 2017. Amostra de secreção foi a que obteve menos coleta, além disso, sua quantidade reduziu com o decorrer do tempo chegando a ser igual a zero nos últimos três anos avaliados.

Tabela 7: Frequência absoluta e relativa das amostras clínicas analisadas nas culturas de fungos por ano.

Ano	Líquidos corporais	Sangue	Respiratória	AMO	Linfonodo	Pele	Biópsia	Mucosa	Secreção	Total
2014	380 (36,50%)	246 (23,63%)	173 (16,62%)	107 (10,28%)	55 (5,28%)	53 (5,09%)	17 (1,36%)	7 (0,67%)	3 (0,29%)	**1041**
2015	238 (24,36%)	303 (31,01%)	213 (21,80%)	104 (10,64%)	39 (3,99%)	37 (3,79%)	17 (1,74%)	9 (0,92%)	17 (1,74%)	**977**
2016	287 (28,42%)	329 (32,57%)	177 (17,52%)	90 (8,91%)	39 (3,86%)	60 (5,94%)	15 (1,49%)	6 (0,59%)	7 (0,69%)	**1010**
2017	316 (28,09%)	317 (28,18%)	223 (19,82%)	96 (8,53%)	55 (4,89%)	97 (8,62%)	10 (0,89%)	11 (0,98%)	0 (0,00%)	**1125**
2018	299 (28,50%)	265 (25,26%)	183 (17,45%)	85 (8,10%)	60 (5,72%)	131 (12,49%)	22 (2,10%)	4 (0,38%)	0 (0,00%)	**1049**
2019	306 (27,20%)	187 (16,62%)	284 (25,24%)	109 (9,69%)	51 (4,53%)	155 (13,78%)	20 (1,78%)	13 (1,16%)	0 (0,00%)	**1125**
Total	**1826**	**1647**	**1253**	**591**	**299**	**533**	**101**	**50**	**27**	**6327**

AMO = aspirado de medula óssea. **Fonte:** Epidemiologia serviço laboratorial HEM, 2014-2019.

A seguir, os exames realizados em cada amostra mencionada foram estudados individualmente. O primeiro exame analisado foi a pesquisa de fungos que consiste na análise microscópica, por imersão, do *imprint* da lâmina corado pelo método Panóptico, para todas as amostras clínicas. E, concomitantemente, o exame micológico direto a fresco (EMD), o qual analisa-se parte da amostra, entre lâmina e lamínula clarificada com solução de hidróxido de potássio (KOH) a 30%, no microscópio óptico no aumento de 10 x e 40 x. Este último, aplica-se para as amostras de biópsia, linfonodo, mucosa, pele, trato respiratório e secreção. Para ambas as metodologias, quando há a visualização de células leveduriformes e hifas o resultado é considerado positivo. O resultado é negativo na ausência da visualização de estruturas fúngicas. A Tabela 8, a seguir, demonstra as frequências dos resultados do exame micológico a fresco (EMD).

Tabela 8: Frequência absoluta e relativa do exame micológico direto a fresco (EMD) por ano.

Ano	Fungos Positivos (EMD)	Negativo	Não realizado	Total
2014	0 (0,00%)	2 (0,85%)	233 (99,15%)	**235**
2015	1 (0,39%)	36 (14,06%)	219 (85,55%)	**256**
2016	2 (0,84%)	32 (13,45%)	204 (85,71%)	**238**
2017	0 (0,00%)	51 (14,66%)	297 (85,34%)	**348**
2018	7 (1,98%)	136 (38,42%)	211 (59,60%)	**354**
2019	10 (2,08%)	174 (36,33%)	295 (61,59%)	**479**
Total	**20**	**431**	**1459**	**1910**

EMD = exame micológico direto. **Fonte:** Epidemiologia serviço laboratorial HEM, 2014-2019.

A variável pesquisa pelo Panótico (PC), que se refere à coloração pelo método Panótico de amostras em *imprints*, é utilizada tanto para o exame de pesquisa de fungos quanto para o exame de pesquisa de leishmanioses. Dessa forma, os resultados de pesquisa de leishmanioses também foram coletados quando estavam associados com o exame de pesquisa de fungos. Obteve-se o total de 2756 exames realizados no período de 2014 a 2019, conforme a Tabela 9.

Tabela 9: Frequência absoluta e relativa da pesquisa direta pelo Panótico (PC) por ano.

Ano	Fungos Positivos (PC)	LT	LV	Negativo	Não realizado	Total
2014	25 (7,22%)	4 (1,16%)	16 (4,62%)	300 (86,71%)	1 (0,29%)	**346**
2015	31 (8,5%)	1 (0,27%)	13 (3,56%)	313 (85,75%)	7 (1,92%)	**365**
2016	28 (8,62%)	3 (0,92%)	20 (6,15%)	274 (84,31%)	0 (0,00%)	**325**
2017	49 (11,1%)	4 (0,91%)	25 (5,67%)	362 (82,09%)	1 (0,23%)	**441**
2018	67 (14,98%)	24 (5,37%)	26 (5,82%)	317 (70,92%)	13 (2,91%)	**447**
2019	106 (12,75%)	21 (2,52%)	19 (2,16%)	662 (79,57%)	25 (3,00%)	**832**
Total	**306**	**57**	**118**	**2228**	**47**	**2756**

LT= Leishmania tegumentar, LV = Leishmania visceral. Fonte: Epidemiologia serviço laboratorial HEM, 2014-2019.

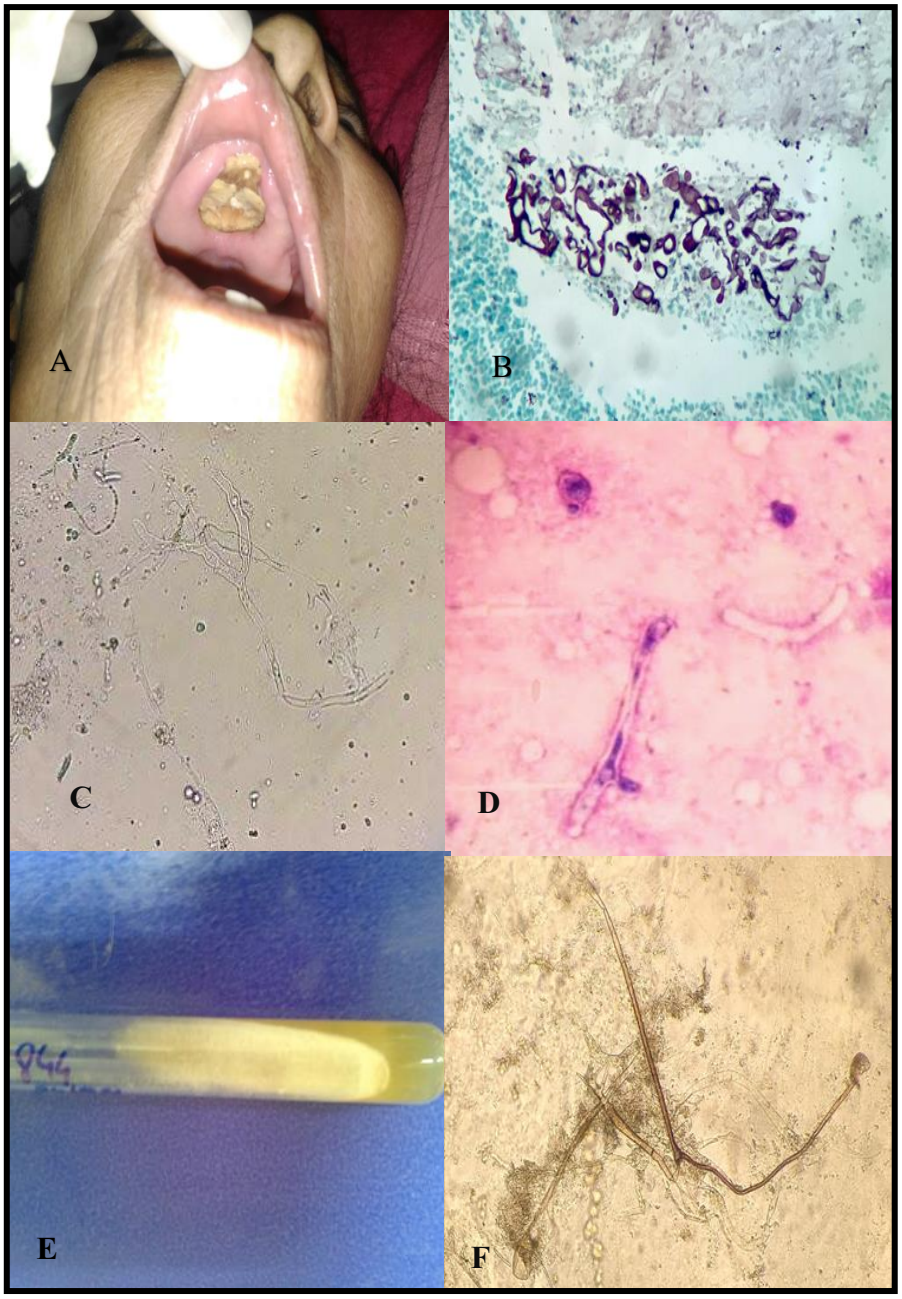
A análise dos dados, da Tabela 8, constatou a solicitação de 1910 exames de pesquisas de fungos onde se aplicaria a análise pelo EMD a fresco, no entanto, percebe-se que em 1459 atendimentos, essa metodologia não foi realizada, em paralelo, com o método de Panótico nas amostras que caberiam as duas técnicas. Considerando as amostras analisadas, verifica-se uma baixa positividade de estruturas fúngicas no período analisado, apesar de um pequeno aumento da positividade nos dois últimos anos. É pertinente mencionar que, realizava-se esta metodologia quando, na solicitação de pesquisa de fungos, a hipótese diagnóstica era de *Paracoccidioides* ssp. Para os outros casos, fazia-se apenas a coloração pelo Panótico.

Na Tabela 9, no contexto micológico, percebe-se um aumento da demanda para este exame no decorrer dos anos, além de um aumento na positividade em relação as estruturas fúngicas visualizadas. Já em relação as leishmanioses, constata-se uma constância das taxas de LV ao longo dos anos, com exceção do ano de 2019 que apresentou uma queda. Além disso, verifica-se um aumento significativo para a LT nos anos de 2018 e 2019. Período no qual o laboratório do HEM foi qualificado como Referência Estadual em LT, pelo Centro de Pesquisas René Rachou e posteriormente pela FUNED.

Um caso clínico ocorrido no ano de 2017, no HEM, denotou a importância do EMD a fresco para o diagnóstico de murcomicose. A paciente, em questão, desenvolveu uma lesão no palato da boca (Figura 10 A), desta foram solicitadas pesquisa e cultura de fungos e a análise histopatológica do tecido. A análise primária da biópsia do palato pelo método de panóptico, sugeriu a presença de células leveduriformes e pseudo-hifas pelo analista. No entanto, o resultado do anatomopatológico nos surpreendeu com a descrição: "biópsia de mucosa escamosa (palato) apresentando extensas áreas de necrose permeadas por exudado purulento, havendo numerosas hifas largas, vesiculosas e cenocíticas permeando paredes vasculares" (Figura 10 B). Por conseguinte, as pesquisas micológicas foram revisadas pela micologista do HEM, por meio dos métodos de panóptico e em seguida pelo EMD a fresco. Neste último, foi possível a perfeita visualização das hifas hialinas asseptadas (Figura 10 C) na biópsia da mucosa do palato, condizendo com o resultado do anatomopatológico e posteriormente com o agente fúngico *Rizhopus* ssp. (Figura 10 E e F) isolado na cultura de fungos. Na lâmina do *imprint,* confirmou-se a presença de células leveduriformes, no entanto, verificou-se que a estrutura referida como pseudo-hifas tratava-se de fragmentos de hifas assepatadas (Figura 10 B). Neste caso, o EMD a fresco demonstrou ser mais sensível que o panóptico, por conservar intacta, a hifa asseptada do

fungo. A partir de então, houve a padronização do EMD a fresco para todas as amostras de biópsias, pele, linfonodos e mucosas, justificando dessa forma, o pequeno aumento da proporção do EMD a fresco realizado nos anos de 2018 e 2019. Este Relato de caso clínico possui aprovação ética CAE: 13308619.9.0000.5124 CEP/HEM e encontra-se em fase de redação para publicação.

Figura 10: Caso Clínico de Murcomicose: A) Lesão de mucosa de palato,B) Coloração histoquímica de Grocott de estruturas fúngicas impregnadas pela prata. C) Hifas asseptadas hialinas no método direto a fresco com KOH 30% aumento de 40x; B) Hifas asseptadas e células leveduriformes coradas pelo Panóptico, aumento de 100x; C) Crescimento fúngico filamentoso no meio Sabouraud e D) Hifas septadas hialinas e rizóides.



Fonte: Serviço do HEM. A) Imagem cedida por Dr. Daniel Farjano B) Imagem cedida por Dr. Moisés Salgado Pedrosa.

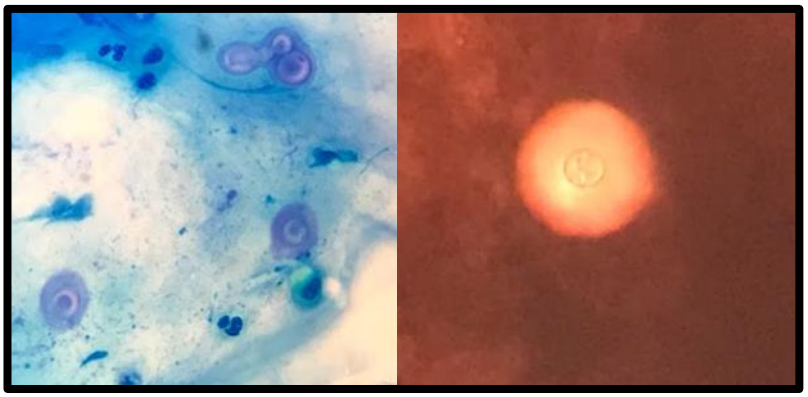
Figura 11: Treinamento em Micologia Médica aos funcionários do setor microbiologia do HEM.



Fonte: Centro de Estudos HEM,2019.

Programas de capacitação, abordando as técnicas para o diagnóstico micológico, foram instituídos à equipe técnica do setor de microbiologia (Figura 11) e (Anexo12 A e B), local onde se realizam as pesquisas de fungos para amostras respiratórias, secreções, aspirados de medula óssea e líquor. O EMD a fresco não é padronizado neste setor, dessa forma, esta técnica foi abordada nos treinamentos como técnica complementar às pesquisas por fungos pelo PC, pesquisa de BAAR e Gram, quando visualizada alguma estrutura suspeita de agentes fúngicos, em especial as leveduras de *Cryptococcus* spp.e de *Paracoccidioides* spp. Na Figura 12, as leveduras de *Cryptococcus* spp. foram visualizadas na pesquisa de BAAR pela coloração de Zielh Nelssen e confirmadas com a tinta da China.

Figura 12: Diagnóstico micológico de *Cryptococcus* ssp. A) Células leveduriformes de *Cryptococcus* spp. na coloração de Zielh Nelssen e B) Células leveduriformes evidenciando a imagem negativa da cápsula de *Cryptococcus* spp. pela tinta da China.

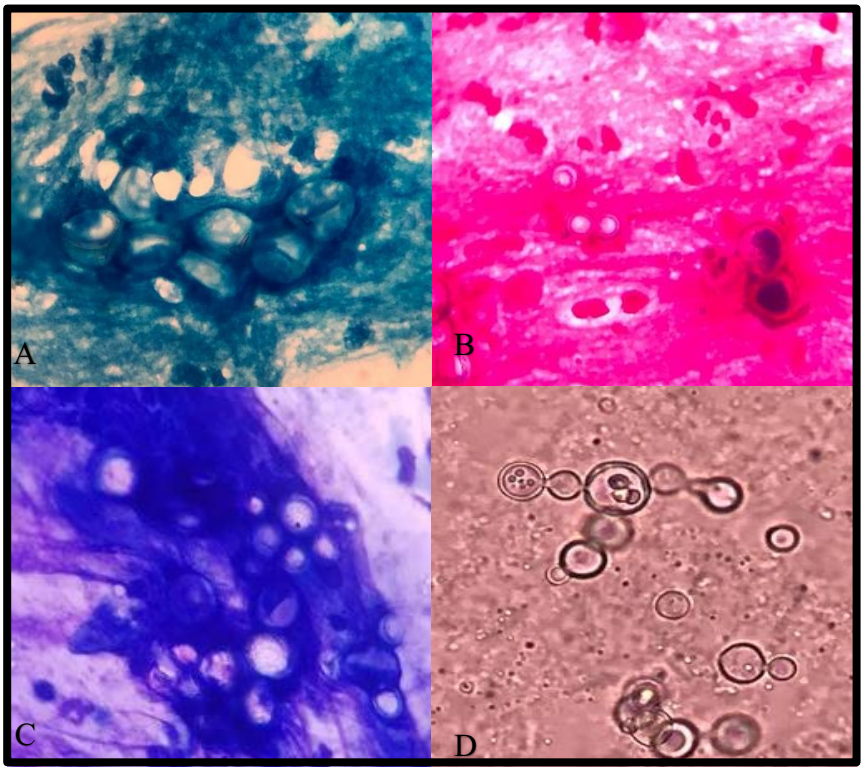


Fonte: Laboratório de Micologia HEM, 2019.

A Figura 13 refere-se a uma amostra de aspirado traqueal na qual solicitou-se pesquisa de BAAR (A), Gram (B) e pesquisa de fungos método PC (C). Estruturas

arredondadas foram visualizadas nessas três colorações. O EMD a fresco fez-se necessário para confirmar a suspeita clínica de *Paracoccidioides* spp. (D). Dessa forma, os treinamentos demonstram as características dos agentes fúngicos em todas as colorações realizadas no laboratório. E ainda, reforça a necessidade de utilizar mais de um método de pesquisa direta para a liberação de resultados de pesquisas de fungos.

Figura 13: Diagnóstico de *Paracoccidioides* spp. :A) Estuturas leveduriformes *de Paracoccidioides* spp. na coloração de Zielh Nelssen; B) Células leveduriformes de *Paracoccidioides* spp na coloração de Gram; C) Células leveduriformes de *Paracoccidioides* spp na coloração de Panótico e D) Estuturas leveduriformes de *Paracoccidioides* spp no exame direto com KOH 30%, em amostra respiratória.



Fonte: Laboratório de Micologia HEM, 2019.

O treinamento contínuo dos funcionários em micologia e leishmaniose tem sido possível por meio de um grupo de WhatsApp, administrado pela bioquímica responsável pela micologia, com assessoria integral em relação as dúvidas e questionamentos no exame micológico direto para fungos e leishmanioses.

Vale a pena mencionar que, além dos treinamentos específicos para os técnicos do laboratório, houve treinamentos para a equipe médica do ambulatório de dermatologia,

infectologia e do bloco cirúrgico, comtemplando o fluxo dos exames para LT e LV, com instruções sobre a coleta e encaminhamento das biópsias e, principalmente, orientações técnicas para a confecção dos *imprints* (Anexo 12). Padronizou-se que os *imprints* deveriam ser confeccionados pelos médicos no momento da coleta, e não mais no laboratório. Essa ação contribui para a obtenção de uma amostra mais representativa e mais homogênea e, consequentemente, com menos artefatos, colaborando para a identificação de estruturas fúngicas de difícil visualização como, por exemplo, as leveduras de *Sporothrix* spp. na pesquisa direta pelo Panótico. A Figura 14 demonstra lâminas de *imprints* do serviço de micologia do HEM, de diferentes pacientes, com sua representatividade abaixo, através da microscopia ótica por imersão, na Figura 15.

Percebe-se que as imagens de *imprints* representadas pelas Figuras 14 A e 15 A não apresentam amostra clínica e que a representatividade destas está aumentando da Figura 15 A para a Figura 14 D. Uma amostra representativa, conforme a Figura 14 D e Figura 15 D, é fundamental para se obter uma alta sensibilidade na pesquisa direta pelo método Panótico.

Figura 14: Lâminas de *imprints* de lesão de biópsias de 4 pacientes distintos coradas pelo Panótico.

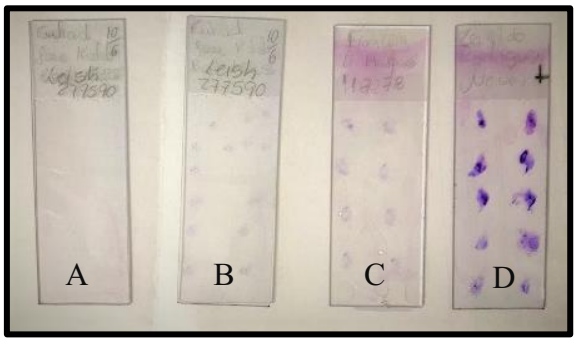
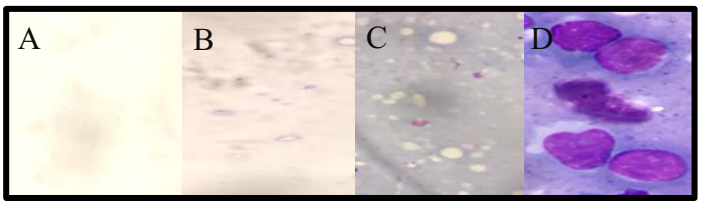


Figura 15: Visualização das lâminas de *imprints* acima no microscópio óptico no aumento de 100x.



Fonte: Laboratório de Micologia HEM, 2019.

A pesquisa de bacilos álcool ácidos resistentes (BAAR) pela coloração de Ziehl-Neelsen e leitura microscópica por imersão é utilizada para o diagnóstico de micobactérias.

Foram realizadas 3991 pesquisas ao longo dos anos estudados. A taxa de positividade deste exame é baixa em todos anos. Com exceção do ano de 2019, este exame apresentou poucos casos de pesquisas de BAAR não realizadas, os resultados obtidos seguem na Tabela 10.

Tabela 10: Frequência absoluta e relativa da pesquisa pela coloração de Ziehl-Neelsen por ano.

Ano	BAAR positivo	Negativo	Não realizada	Total
2014	23 (3,20%)	694 (96,66%)	1 (0,14%)	**718**
2015	14 (2,37%)	577 (97,63%)	0 (0,00%)	**591**
2016	17 (2,96%)	557 (97,04%)	0 (0,00%)	**574**
2017	23 (3,43%)	646 (96,42%)	1 (0,15%)	**670**
2018	17 (2,70%)	610 (96,98%)	2 (0,32%)	**629**
2019	32 (3,96%)	753 (93,08%)	24 (2,97%)	**809**
Total	**126**	**3837**	**28**	**3991**

BAAR = bacilo álcool ácido resistente. **Fonte**: Epidemiologia serviço laboratorial HEM, 2014-2019.

A pesquisa de fungos pela tinta da China é um método que utiliza a tinta nanquim para destacar a cápsula do *Cryptococcus* spp. contra um fundo escuro (ANVISA, 2013a). A amostra biológica é preparada em uma lâmina com a tinta nanquim e lamínula e, em seguida, observada no microscópio óptico nos aumentos de 10x e 40x. Nota-se 1431exames realizados com uma pequena variação na porcentagem de resultados positivos para *Cryptococcus* spp. no decorrer dos anos. A taxa de exames não realizados foi igual a zero nos anos de 2014 a 2018 e, em 2019, registrou-se apenas dois casos. As frequências obtidas para este exame seguem na Tabela 11.

Tabela 11: Frequência absoluta e relativa da pesquisa de fungos pela tinta da China por ano.

Ano	*Cryptococcus* ssp.	Negativa	Não realizada	Total
2014	39 (12,04%)	285 (87,96%)	0 (0,00%)	**324**
2015	23 (11,39%)	179 (88,61%)	0 (0,00%)	**202**
2016	39 (17,26%)	187 (82,74%)	0 (0,00%)	**226**
2017	36 (15,25%)	200 (84,75%)	0 (0,00%)	**236**
2018	30 (13,95%)	185 (86,05%)	0 (0,00%)	**215**
2019	37 (16,23%)	189 (82,89%)	2 (0,88%)	**228**
Total	**204**	**1225**	**2**	**1431**

Fonte: Epidemiologia serviço laboratorial HEM, 2014-2019.

A seguir, os agentes fúngicos isolados nas culturas de fungos pelo método tradicional foram agrupados para uma avaliação global dos resultados obtidos, em cada ano do período estudado, conforme listado na Tabela 12. Em sua análise, percebe-se um aumento da demanda de solicitações do exame cultura de fungos nos três últimos anos. Apesar da baixa positividade deste exame, houve um aumento considerável da porcentagem de positividade ao longo dos anos. Da mesma forma, a taxa de contaminação também aumentou

significativamente. A porcentagem de exames não realizados foi maior no ano de 2016, com queda a partir deste ano e aumento no ano de 2019.

Tabela 12: Frequência relativa e absoluta dos resultados das culturas de fungos (Sabouraud e Mycosel) por ano.

Ano	Positiva	Negativa	Contaminada	Não realizada	Total
2014	57 (7,09 %)	717 (89,29%)	23 (2,86%)	6 (0,75%)	**803**
2015	39 (5,34%)	621 (85,07%)	62 (8,49%)	8 (1,10%)	**730**
2016	101 (14,9%)	403 (59,53%)	161 (23,78%)	12 (1,77%)	**677**
2017	171 (15,5%)	721 (65,55%)	193 (17,55%)	15 (1,36%)	**1100**
2018	148 (14,2%)	663 (63,87%)	223 (21,48%)	4 (0,39%)	**1038**
2019	218 (19,5%)	674 (60,23%)	219 (19,57%)	8 (0,71%)	**1119**
Total	**517**	**3799**	**881**	**53**	**5467**

Fonte: Epidemiologia serviço laboratorial HEM, 2014-2019.

Em relação às culturas de micobactérias, ressalta-se que foram incluídas apenas as que possuíam a solicitação de cultura de fungos no atendimento médico. Dessa forma, a análise refere-se a uma parte das culturas de micobactérias realizadas no serviço. Os resultados das culturas de micobactérias encontram-se na Tabela 13.

Tabela 13: Frequência absoluta e relativa dos resultados das culturas de micobactérias por ano.

Ano	Positiva	Negativa	Contaminada	Não realizada	Total
2014	3 (0,49%)	598 (97,24%)	3 (0,49%)	11 (1,79%)	**615**
2015	9 (2,61%)	333 (96,52%)	1 (0,29%)	2 (0,58%)	**345**
2016	21 (3,38%)	573 (92,12%)	27 (4,34%)	1 (0,16%)	**622**
2017	27 (3,13%)	779 (90,37%)	55 (6,38%)	1 (0,12%)	**862**
2018	30 (3,98%)	711 (94,30%)	12 (1,59%)	1 (0,13%)	**754**
2019	29 (3,03%)	887 (92,69%)	15 (1,57%)	26 (2,72%)	**957**
Total	**119**	**3881**	**113**	**42**	**4155**

Fonte: Epidemiologia serviço laboratorial HEM, 2014-2019.

Nota-se que a maioria dos resultados das culturas de micobactérias em todos os anos é negativa, com porcentagem acima de 90%. No entanto, constata-se um aumento na positividade das culturas, até o ano de 2016 e em seguida, essa porcentagem mantem-se constante. É notável, também, um aumento da taxa de contaminação até o ano de 2017 seguido por uma redução significativa. Já nas culturas de micobactérias não realizadas percebe-se uma redução destas do ano 2014 ao ano de 2018, com apenas um caso relatado e no ano de 2019, há um aumento considerável das culturas não realizadas.

Para avaliar o efeito das mudanças propostas, com a implementação de Procedimentos Operacionais Padrão (POP's) e treinamentos específicos instituídos no serviço de micologia do HEM, foi feita uma comparação dos resultados de alguns exames antes e após as ações estabelecidas. A Tabela 14 compara os resultados da pesquisa direta

pela coloração de Panótico antes e após o **POP 03- Coloração de Exame direto para Leishmanioses Giensa/Panótico** (Anexo 05 E). A Tabela 15 aborda os resultados da cultura de fungos antes e depois do **POP 11 - Cultura de fungos** (Anexo 05 L), e finalmente, a Tabela 16 lista os resultados das culturas de micobactérias antes e depois do **POP 12 - Cultura de Micobactérias** (Anexo 05 M).

Com base na Tabela 14, é possível observar que a partir de agosto de 2018, marcado pela elaboração do **POP 03- Coloração de Exame direto para Leishmanioses Giensa/Panótico** (Anexo 05E), o percentual de resultados negativos para a pesquisa direta de fungos pelo método Panótico reduziu de 84,56% para 76,48%. Houve um aumento na detecção da maioria dos agentes etiológicos fúngicos, com exceção de *Histoplasma* spp.. A frequência relativa de exames que detectaram Leishmania visceral, reduziu, e passou de 5,01% para 3,51%. As maiores alterações no percentual foram na detecção de células leveduriformes e hifas, de 7,18% para 12,19%, e de Leishmania tegumentar, de 0,81% para 3,51%.

A implementação e treinamento do **POP 11 - Cultura de fungos** (Anexo 05 L)**,** implementado dia 05/05/2016, também provocou mudanças significativas nos resultados provenientes deste exame. Essas alterações podem ser observadas a partir dos valores Tabela 15. Depois de maio de 2016 até dezembro de 2019, o percentual de resultados negativos reduziu de 82,7% para 64,7%. Houve um aumento na proporção de detecção de todos os agentes fúngicos, com exceção dos Actinomicetos que se mantiveram constantes. O aumento mais expressivo ocorreu no grupo *Candida* spp. de 1,9% para 8,0%., *Histoplasma* spp. e *Sporothrix* spp apresentaram um aumento semelhante de suas proporções de, aproximadamente, 1,00%. Já o *Paracoccidioides* spp. teve um aumento de 0,0% para 0,6%. Em relação aos exames não realizados, houve uma pequena redução, de 1,1% para 0,9%. Entretanto, o mesmo não ocorreu em relação ao percentual de exames contaminados devido um aumento de 9,1% para 19,7%.

Tabela 14: Comparação dos resultados da pesquisa direta pelo Panótico antes e depois **do POP 03- Coloração de Exame direto para Leishmanioses Giemsa/Panótico.**

	CLeH	CRYP	HISTO	PARAC	SPORO	LT	LV	NR	NEG	TOTAL
Antes de agosto 2018	106 (7,18%)	2 (0,14%)	17 (1,15%)	8 (0,54%)	0 (0,00%)	12 (0,81%)	74 (5,01%)	9 (0,61%)	1249 (84,56%)	**1477**
Depois de agosto 2018	156 (12,19%)	3 (0,23%)	3 (0,23%)	9 (0,70%)	2 (0,15%)	45 (3,51%)	45 (3,51%)	38 (2,96%)	979 (76,48%)	**1280**

CLeH = Células leveduriformes e hifas; CRYP = *Cryptococcus* spp.; HISTO = *Histoplasma* spp.; PARAC = *Paracoccidioides* spp.; SPORO = *Sporothrix* spp.; LT = Leishmania tegumentar; LV = Leishmania visceral; NR = Não realizado e NEG = Negativo. **Fonte:** Epidemiologia serviço laboratorial HEM, 2014-2019.

Tabela 15: Comparação dos resultados da cultura de fungos antes e depois do **POP 11 - Cultura de fungos.**

	CAN	CRYPT	HISTO	PARAC	SPORO	ACT	FILA	RODO	NR	CONT	NEG	TOTAL
Antes de maio 2016	35 (1,89%)	75 (4,06%)	8 (0,43%)	0 (0,00%)	9 (0,49%)	1 (0,05%)	3 (0,16%)	0 (0,00%)	20 (1,08%)	169 (9,14%)	1528 (82,68%)	1848
Depois de maio 2016	290 (8,01%)	167 (4,61%)	52 (1,44 %)	21 (0,58%)	50 (1,38%)	2 (0,05%)	16 (0,44%)	6 (0,17%)	33 (0,92%)	712 (19,67%)	2271 (62,73%)	3620

CAN= *Candida* spp.; CRYP= *Cryptococcus* spp., HISTO= *Histoplasma* spp.; PARAC= *Paracoccidioides* spp.; SPORO= *Sporothrix* spp. ACT= Actinomices; FILA= fungos filamentosos; RODO= *Rhodotorula* spp.; NR = Não realizados, CONT= contaminação e NEG= Negativo. **Fonte:** Epidemiologia serviço laboratorial HEM, 2014-2019.

Tabela 16: Comparação dos resultados das culturas de micobactérias antes e depois do **POP 12 - Cultura de Micobactérias**.

	Positivo	Negativo	Contaminação	Não realizado	Total
Antes de julho de 2016	12 (1,25%)	931 (96,98%)	4 (0,42%)	13 (1,35%)	960
Depois de julho 2016	107 (3,35%)	2951 (92,33%)	109 (3,41%)	29 (0,91%)	3196

Fonte: Epidemiologia serviço laboratorial HEM, 2014-2019.

Em relação à Tabela 16, nota-se um aumento de 2,1% da porcentagem de positividade das culturas de micobactérias após a elaboração do **POP 12 - Cultura de Micobactérias** (Anexo 05 M). No entanto, o índice de contaminação destas culturas aumentou 3,0 %. A taxa de exames não realizados diminuiu passando de 1,35% para 0,91%. Vale a pena mencionar que o aumento da taxa de contaminação na cultura de micobactérias é um resultado a favor da qualidade do método. E esta taxa deve-se encontrar na faixa de 3% a 5%. A cultura de micobactérias exige um procedimento de descontaminação das amostras biológicas não estéreis antes de seu plantio. Essa descontaminação se dá pelo Método do Lauril Sulfato de Sódio para eliminar os microrganismos contaminantes que, por se desenvolverem muito mais rapidamente que as micobactérias, impedem a multiplicação destas. Esse tratamento é feito com agentes químicos aos quais as micobactérias são conhecidamente mais resistentes e, além disso, possibilita a digestão da matéria orgânica do material (ANVISA, 2013a). A qualidade dos reagentes adquiridos para fluidificação e descontaminação é avaliada através do controle de qualidade da descontaminação das amostras, feito mensalmente para avaliar o percentual de culturas contaminadas. A margem de tubos contaminados aceitável é de 3 a 5%. Valores baixos indicam uma descontaminação excessivamente drástica, exposição longa da amostra ou concentração alta de verde malaquita no meio de cultura. Valores altos podem indicar concentração muito baixa do reagente descontaminante, tempo curto de contato, amostra mal conservada no transporte ou armazenamento, tempo muito longo entre a coleta e processamento, presença de contaminantes no ambiente laboratorial e ou na estufa de cultura, geralmente por fungos ambientais (ANVISA, 2013b).

Verificou-se que as taxas de culturas contaminadas vêm aumentando com o passar dos anos apesar dos esforços para reduzi-las. Por conseguinte, avaliou-se, então, todas as culturas de fungos interrompidas por contaminação no método Sabouraud e Mycosel em cada amostra biológica, no decorrer dos anos para uma análise mais detalhada deste problema (Tabela 17).

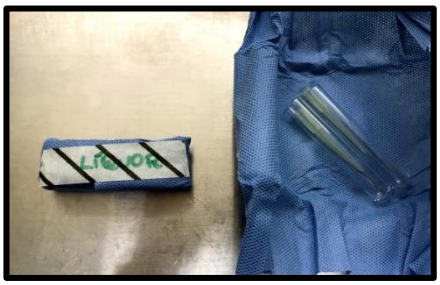
Tabela 17: Frequência absoluta e relativa de culturas contaminadas por amostras em cada ano.

Culturas fúngicas Sabouraud e Mycosel interrompidas por contaminação							
Ano	**AMO**	**Linfonodo**	**LCR**	**Sangue**	**Pele**	**Respiratória**	**Outras**
2014 (n=23)	3 (13,04%)	4 (17,39 %)	3 (13,04 %)	-	2 (8,70 %)	11 (47,83 %)	0 (0,00%)
2015 (n=62)	2 (3,23%)	1 (1,61 %)	4 (6,45 %)	-	6 (9,68 %)	40 (64,52 %)	8 (15,51%)
2016 (n=161)	5 (3,11%)	4 (2,48 %)	39 (24,22%)	-	8 (4,97%)	102 (63,35%)	3 (1,87 %)
2017 (n=193)	1(0,52%)	7 (3,63 %)	38 (19,69%)	8 (4,15%)	24 (12,44%)	112 (58,03%)	3 (1,54%)
2018 (n=223)	10 (4,48 %)	12 (5,38%)	41 (18,39%)	47 (21,08%)	27 (12,11%)	82 (36,77 %)	4 (1,79%)
2019 (n=219)	2 (0,91 %)	3 (1,37%)	48 (21,92%)	10 (4,57%)	27 (12,33%)	123 (56,16 %)	6 (2,74%)

AMO= aspirado de medula óssea e LCR= líquidos corporais e Outras = biópsia, mucosas e secreções. **Fonte:** Epidemiologia serviço laboratorial HEM, 2014-2019.

Observa-se que do total de contaminações das culturas fúngicas nos meios Sabouraud e Mycosel, em quase todos os anos, metade referem-se às amostras respiratórias. Em seguida, as de líquidos corporais e as amostras de pele. Para as culturas de sangue, linfonodo e aspirado de medula óssea, detectou-se um aumento das contaminações no ano de 2018 e uma redução no ano de 2019. Algumas medidas foram tomadas, em 2019, com o intuito de diminuir as contaminações das culturas fúngicas, dentre estas podemos citar: centralização do plantio no setor da microbiologia, para que as amostras fossem processadas no momento em que chegassem ao laboratório; inserção do ágar Sabouraud com cloranfenicol, este último, um antibiótico de largo espectro que inibe o crescimento de bactérias contaminantes nas culturas fúngicas; confecção de um *kit* estéril individualizado, com: ponteiras, tubo com tampa e gazes (Figura 16), para o processamento de liquor e, por fim, a incubação destas no setor da microbiologia em local mais apropriado, com menos poeira, ácaros e incidência direta da luz solar.

Figura 16: *Kit* estéril para o processamento do liquor.



Fonte: Laboratório de Micologia HEM, 2019.

Constata-se que este fato continua sendo um desafio a ser solucionado no serviço micológico. Dessa forma, para o melhor entendimento deste problema, padronizou-

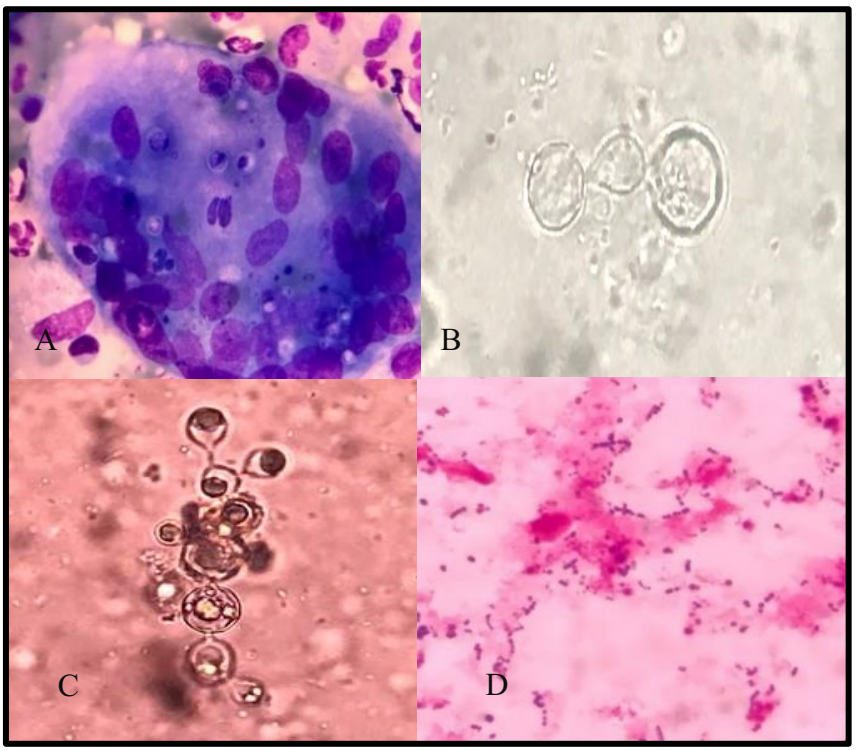
se, a partir do ano de 2020, a especificação dos tipos de contaminações em: bacterianas e por fungos saprófitas nos resultados das culturas de fungos, a fim de se alcançar dados mais precisos que possam subsidiar futuras ações para melhorias em relação a este problema atual. É importante destacar que a coleta de uma amostra clínica de forma inadequada, sem obedecer as técnicas de assepsia necessárias ou coletas realizadas em sítios inadequados, pode contribuir fortemente para a interrupção da cultura fúngica devido a presença de agentes contaminantes. O laboratório é responsável apenas pela coleta de sangue, as outras amostras são coletadas por médicos e fisioterapeutas. Dessa forma, seria de grande valia que o laboratório clínico disponibilizasse um Manual de Coleta Clínica (LIPPI *et al*., 2013) a estes profissionais, no qual abordasse procedimentos de coleta, acondicionamento e transporte das amostras clínicas dos setores até ao laboratório, requisitos pré-analíticos indispensáveis à realização de exames microbiológicos confiáveis e fidedignos.

Ainda no contexto das contaminações das culturas fúngicas, o presente estudo identificou casos clínicos nos quais determinado agente fúngico, embora detectado na pesquisa direta, não apresentou crescimento fúngico na cultura, ou apresentou o crescimento fúngico de fungos endógenos, residentes da microbiota humana (COLOMBO *et al*., 2006, GEHRING *et al*., 2016), que possivelmente não concluíram o processo de invasão do hospedeiro resultando em infecção (MARCOS *et al*., 2016). Esse evento se evidenciou principalmente nas amostras respiratórias. As Figuras 12 e 13, citadas anteriormente, constituem alguns destes casos, nos quais em ambas as culturas, houve crescimento de *Candida* spp., provável colonizante do trato respiratório superior, apesar da visualização de *Paracoccidioides* spp. e *Cryptococcus* spp., na pesquisa de fungos, respectivamente.

Um caso clínico, estudado com mais afinco, trata-se de um paciente com diagnóstico prévio de Hanseníase, desde 2005, que deu entrada no serviço dermatológico do HEM com uma lesão no lábio. Na ocasião, colheu-se biópsia da lesão que foi direcionada para os exames de PLECT e de anatomopatológico. Na pesquisa de fungos foram visualizadas células leveduriformes características de *Paracoccidioides* spp., nos métodos Exame direto a fresco com KOH 30% e no Panótico (Figuras 17 A e B). O tratamento do paciente foi instituído com itraconazol 200mg por dia. Na consulta de retorno do paciente, após 30 dias do tratamento preconizado, a lesão da boca havia cicatrizado, além disso, as alterações na face e orelhas diminuíram. Esse fato, fez com que a médica responsável pelo paciente solicitasse a revisão de lâmina do exame anatomopatológico realizado em 23/09/2016 que sugeria o diagnóstico de “Hanseníase Tuberculóide (MHT)”. Vale a pena

ressaltar que, o paciente já havia realizado cinco tratamentos para Hanseníase desde o ano de 2005, sem melhoras nas lesões da face e edema dos lóbulos das orelhas. O resultado da revisão de lâmina (22/07/2020), referente a lâmina de Nº29749/16, teve como conclusão "Dermatite crônica granulomatosa, podendo corresponder a manifestação cutânea de Paracoccidioidomicose sistêmica.

Figura 17: Diagnóstico caso clínico de paracoccidioidomicose: A) Coloração de *imprint* de lesão labial corado pelo Panótico evidenciando células leveduriformes de *Paracoccidioides* spp.; B) Células leveduriformes visualizadas pelo de biópsia da mucosa visualizadas no EMD com KOH 30%; C) Análise microscópica do meio de cultura Lowenstein-Jensen cultivado com a biópsia e D) Coloração de Gram do esfregaço do meio de cultura de *Lowenstein-Jensen*.



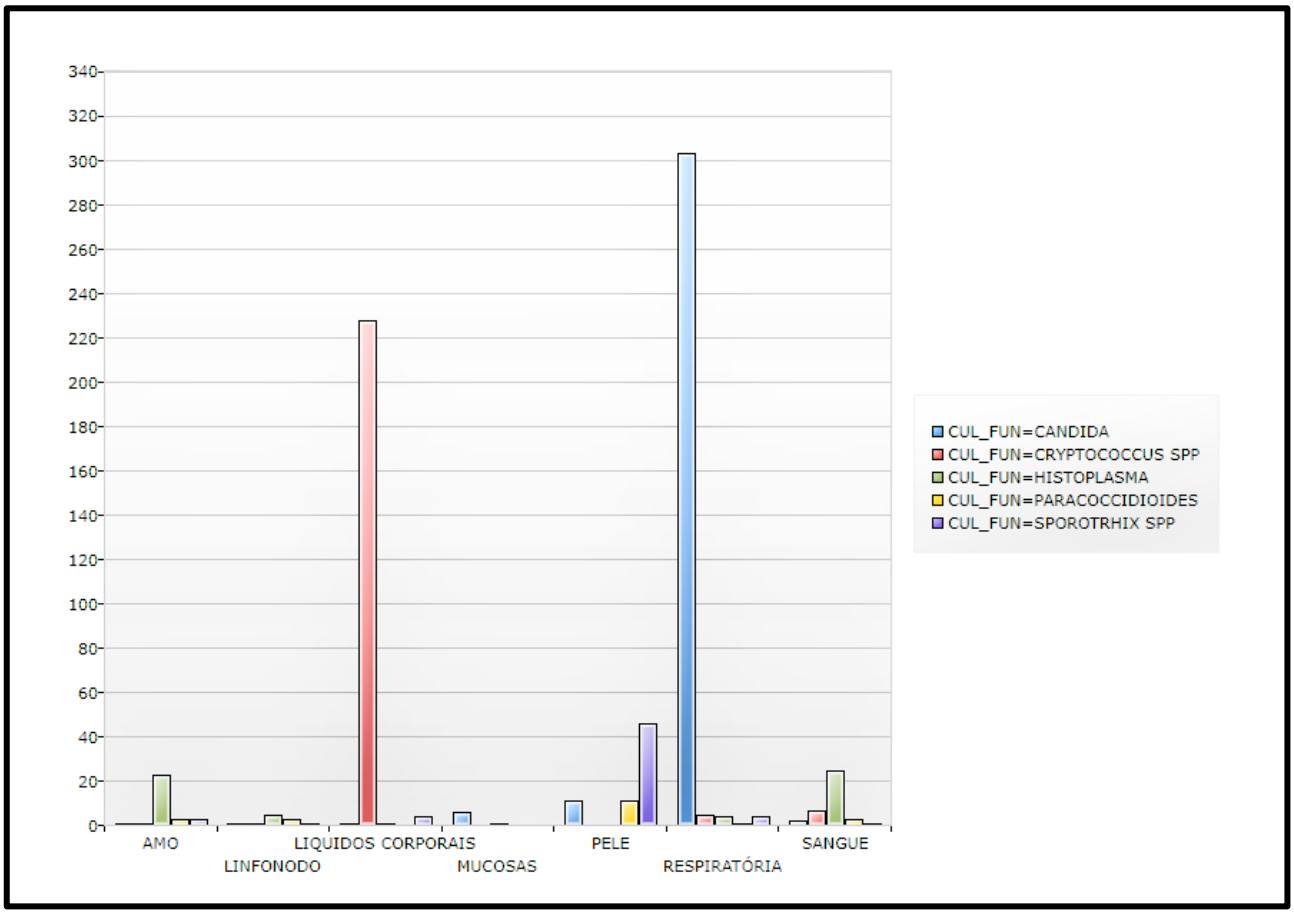
Fonte: Laboratório de Micologia HEM, 2020.

O surpreendete neste caso clínico foi o fato da cultura fúngica da lesão do lábio, padrão ouro para o diagnóstico micológico, finalizar-se como negativa. Acontece que a cultura para micobactérias apresentou uma alteração na cor do meio *Lowenstein-Jensen* (LJ) de verde para amarelo, sugerindo o crescimento de algum agente contaminante. Essa contaminação foi investigada por meio da visualização de parte da cultura, entre lâmina e lamínula, utilizando o microscópio óptico nos aumentos de 10x e 40x. Nesta análise, visualizou-se raras estruturas leveduriformes, arredondadas, birrefringentes, com membrana dupla e blastoconídios ligados à célula-mãe por uma ligação estreita, características de células de *Paracoccidioides* spp.(OLIVEIRA, 2014) e compatível com a temperatura de incubação da cultura, 37ºC, rodeadas por estuturas menores sugestivas de bactérias (Figura

17 C). Em seguida, realizou-se um esfregaço em lâmina, dessa cultura, e a corou pelo método de Gram (Figura 17 D), onde identificou-se cocos Gram positivos aos pares e em cadeias. A partir da análise da cultura de micobactérias, atráves do EMD e do Gram, podemos inferir a possibilidade do agente fúngico, em questão, ter tido seu crescimento interrompido pela presença de bactérias. Dessa forma, concluiu-se que a contaminação bacteriana é um fator limitante para o desenvolvimento dos agentes fúngicos cultivados. Além disso, esse relato, reforça a importância do exame de pesquisa de fungos pelos métodos direto com KOH 30% a fresco e pela coloração de Panótico a partir de uma coleta adequada e representativa. E ainda, destaca a urgência do desenvolvimento de técnicas moleculares capazes de identificar e, em alguns casos, quantificar o agente fúngico a partir de amostras clínicas a fim de fornecer um diagnóstico mais eficiente comparado à micologia clássica e a exames anatomopatológicos (ADENIS *et al*., 2018; OLIVEIRA *et al*., 2020; RODRIGUES; DE HOOG; DE CAMARGO, 2015; ZHANG *et al*., 2019).

Em seguida, classificamos o gênero dos fungos isolados de acordo com a amostra clínica do paciente com a intenção de verificar quais eram os agentes fúngicos mais prevalentes nas diferentes amostras clínicas, conforme Gráfico 1. Considerando as amostras respiratórias, observa-se que todos os agentes fúngicos foram isolados neste tipo de amostra. No entanto, com uma prevalência de *Candida* spp. 303 (95,58%), seguido por *Cryptococcus* spp. 5 (1,58%), *Histoplasma* spp. e *Sporothrix* spp. ambos com 4 (1,26%) isolados e *Paracoccidioides* spp. apenas 1 (0,32%) isolado. Já os líquidos corporais, constituído em sua maioria por líquido cefalorraquidiano observamos o predomínio do agente *Cryptococcus* spp. 228 (97,44%), seguido por *Sporothrix* spp.4 (1,71%) e com somente um caso, *Candida* spp. e *Histoplasma* spp. 1 (0,43%). Nas amostras de pele, *Sporothrix* spp. é o mais frequente com 46 (67,65%) isolados e na sequência *Candida* spp. e *Paracoccidioides* spp. com 11 (16,18%). As amostras de sangue demonstraram uma predominância de *Histoplasma* spp. 25 (65,79%), seguido por *Cryptococcus* spp. 7 (18,42%), *Paracoccidioides* spp. 3 (7,89%), *Candida* spp. 2 (5,26%) e *Sporothrix* spp. 1 (2,63%). Curiosamente, nos aspirados de medula óssea *Histoplasma* spp. foi o agente mais isolado 24 (75,00%) com porcentagem muito próxima à encontrada no sangue. Seguidamente, *Paracoccidioides* spp. e *Sporothrix* spp. com 3 (9,38%) isolados e *Candida* spp. e *Cryptococcus* com 1 (3,13%). Finalmente, nas amostras de linfonodo isolou-se os cinco fungos, porém foram poucos casos, sendo 5 (45,45%) de *Histoplasma* spp., 3 (27,27%) de *Paracoccidioides* spp., e 1 (9,09%) de *Candida* spp. *Cryptococcus* spp e *Sporothrix* spp.

Gráfico 1: Principais agentes fúngicos isolados no HEM por amostra clínica, métdo Sabouraud e Mycosel no período de 2014 a 2019.



Fonte: Dados laboratoriais do HEM 2014 a 2019.

Uma aspecto intrigante no Gráfico 1 é a baixa frequência de agentes *Candida* spp. isolados em amostras sanguíneas apesar da grande porcentagem destes nas amostras respiratórias. Alguns pontos devem ser considerados para a elucidação deste achado. A priori, ressalta-se que a técnica analisada refere-se à cultura de fungos pelo método clássico, cultivo em Sabouraud e Mycosel. No entanto, o "padrão ouro" para o diagnóstico da candidemia é a hemocultura automatizada (COLOMBO *et al*., 2013) . Dessa forma, os resultados de exames de hemocultura não aparecem no Gráfico 1. Outro ponto a considerar é que determinadas amostras respiratórias, quando não relacionadas à infecções pulmonares, em contato com a cavidade oral, acabam-se contaminando com *Candida* spp. endógena do microbioma gastrointestinal, no momento da coleta (COLOMBO *et al*., 2013). Assim, infere-se que a alta frenquência de *Candida* spp. em amostras respiratórias não constitui infecções propriamente ditas. Haja visto que a infecção fúngica caracteriza-se pela invasão e estabelecimento do microrganismo nas células e tecidos do hospedeiro (GEHRING *et al*., 2016; MARCOS *et al*., 2016).

As metodologias relacionadas à micologia clássica foram aprimoradas por meio da inclusão de novos meios de cultura para auxiliar na identificação fúngica e além disso, protocolos técnicos foram estabelecidos fundamentados em evidências científicas. Neste contexto, pode-se citar, em especial, o Ágar Níger e o Ágar Batata Dextrose (BDA). O primeiro refere-se a um meio de cultura sólido diferencial para *Cryptococcus* spp.. Uma vez que a presença do macerado de sementes de níger (*Guizotia absyssinica*), rico em compostos fenólicos, servem de substrato para a ação da enzima fenoloxidase. Dessa forma, colônias de *Cryptococcus* spp. apresentam uma coloração enegrecida pela produção de melanina. (NEGRONI, 2012). Já o Ágar Batata Dextrose (BDA) é um meio utilizado para o isolamento de fungos e leveduras. O pH deste meio o torna seletivo para impedir o crescimento da maioria dos microrganismos da microbiota acompanhante e permite o crescimento do fungo pesquisado (ANVISA, 2013a).

Uma observação curiosa no banco de dados, contendo os isolados fúngicos, obtidos no presente trabalho é representada abaixo na Tabela 18. Percebe-se dois pacientes com resultados consecutivos de cultura de sangue, pela metodologia hemocultura automatizada, sendo, para ambos pacientes, o primeiro resultado liberado com *Candida* spp. e o segundo como *Cryptococcus* spp., em um curto intervalo de tempo. Esse fato nos induz à hipótese de um possível erro de indentificação do agente fúngico. Vale a pena ressaltar sobre os relatos de *Cryptococcus* spp. que não apresentam cápsula constituindo dessa forma, um desafio para as abordagens diagnósticas convencionais (SUGIURA *et al*, 2017). Em adição, pode-se citar a constatação, em nosso serviço, de colônias de *Cryptococcus* spp. que apresentaram crescimento de colônias cor de rosa, em CHROMagar®, meio diferencial para identificação presuntiva de leveduras tipo *Candida*, bem parecidas com as colônias de outras espécies de Candida. A seguir, temos a interpretação do cultivo em CHROMagar®: colônias com coloração verde são classificadas como *C. albicans*, colônias azuis metálicas como *C. tropicalis*, colônias rosa e rugosa como *C. Krusei* e colônias rosas outras espécies de *Candida* (RIBEIRO *et al*, 2009).

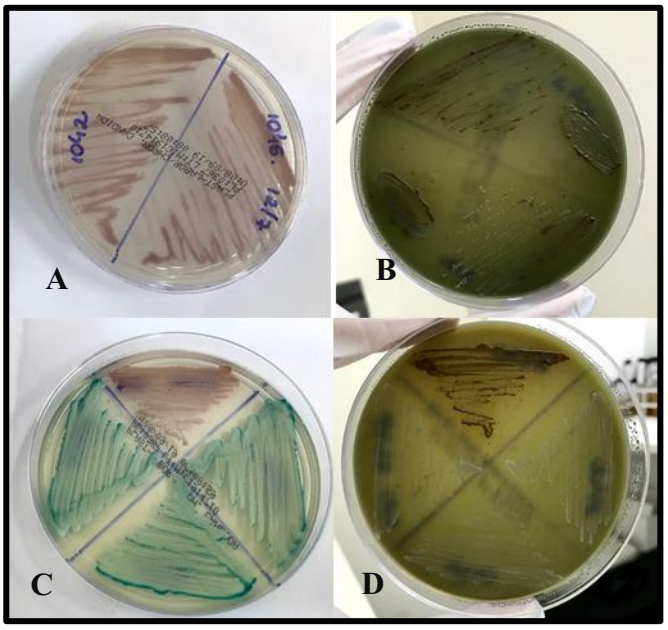
Tabela 18: Resultado de culturas de fungos em amostras sanguíneas pela hemocultura automatizada**.**

Ano	Prontuário	Iniciais	Data exame	Amostra	Resultado
2014	125854	ACB	08/02/2015	Sangue	*Candida* spp.
2014	125854	ACB	21/02/2015	Sangue	*Cryptococcus* spp.
2016	132644	BCS	15/04/2016	Sangue	*Candida* spp.
2016	132644	BCS	21/04/2016	Sangue	*Cryptococcus* spp.

Fonte: Banco de dados de isolados fúngicod de pacientes do HEM, 2014 à 2016.

Mediante aos fatos, padronizou-se o Ágar Níger como meio diferencial complementar para a identificação de leveduras, em especial, nos casos com resultados prévios negativos no exame tinta da China e ainda, leveduras com crescimento de coloração rosa em CHROMagar®. A seguir, na Figura 18 , registros dos fatos observados no laboratório de micologia do HEM.

Figura 18: Identificação de *Cryptococcus* spp.: A) Colônias de dois isolados de *Cryptococcus* spp. de cor rosa em CHROMagar® B) Colônias de dois isolados de *Cryptococcus* spp. de cor escura em ágar Níger.C) Um isolado de *Cryptococcus* spp. (rosa).e três de *Candida albicans* (verde) em CHROMagar® e D) Um isolado de *Cryptococcus* spp. (cor escura).e três de *Candida albicans* (cor branca) em Ágar Níger.

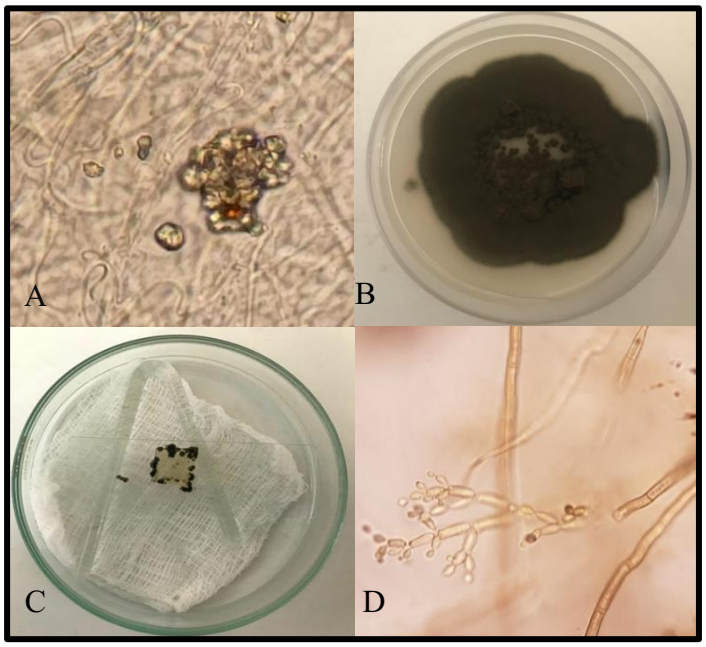


Fonte: Laboratório de Micologia do HEM, 2019.

A técnica de microcultivo (OLIVEIRA, 2013) utilizando o Agar Batata Dextrose (BDA) foi fundamental para a identificação do fungo *Fonsecaea* spp*.,* agente etiológico responsável pela patologia clínica denominada cromoblastomicose, uma micose subcutânea (QUEIROZ-TELLES *et al*., 2017a). O fungo foi isolado de um fragmento de lesão de pele em ágar Sabouraud e Mycosel, proveniente de um paciente do sexo masculino, 37 anos, apresentando lesões em placas infiltradas que se ulceraram, de curso crônico, desde 2016, inicialmente tratado como Leishmaniose tegumentar disseminada por diagnóstico anatomopatológico em 2019, atendido no serviço ambulatorial de dermatologia do HEM. Com igual importância para este caso, pode-se citar o alinhamento entre médico e laboratório (SCIACOVELLI *et al*., 2016) o momento em que o médico responsável pelo paciente mencionou a hipótese diagnóstica de “cromoblastomicose”, na solicitação médica,

informação extremamente relevante para o êxito deste diagnóstico laboratorial micológico. Corpos escleróticos caracterizados por células muriformes embutidas no tecido lesionado (QUEIROZ-TELLES *et al*., 2017a), foram visualizados na pesquisa direta a fresco com KOH 30% do fragmento de pele, por meio da microscopia óptica nos aumentos de 10x e 40x. (Figura 19 A). A cultura fúngica da amostra clínica, após 10 dias de incubação à temperatura ambiente, evidenciou o crescimento moderado de fungo com colônias filamentosas, veludosas, de cor verde oliva (QUEIROZ-TELLES *et al*., 2017a) (Figura 19 B).

Figura 19: Diagnóstico caso clínico de cromoblastomicose :A) Corpo esclerótico no Exame direto à fresco com KOK 30% de fragmento de pele, aumento 40 x, B) Cultura do fungo em BDA, à temperatura ambiente, B) Técnica do microcultivo em BDA e C) Frutificação do tipo Cladosporium e hifas septadas demáceas, aumento 40 x.



Fonte:Laboratório de Micologia do HEM, 2020.

No entanto, a partir deste cultivo, não foi possível a caracterização microscópica e consequentemente identificação do gênero do agente etiológico, pois as estruturas de frutificação dos fungos não se encontravam preservadas na análise microscópica do meio cultivado. Realizou-se, desta forma, a técnica de microcultivo utilizando o BDA (Figura 19 C) a fim de obter as estruturas fúngicas de frutificação íntegras. Logo, a partir desta técnica, foi possível a visualização da frutificação do tipo Cladosporium (Figura 19 D), predominante em *Fonsecaea* spp. Estudos adicionais, com o isolado fúngico, como a

susceptibilidade à antifúngicos, bem como sua caracterização molecular e estudo filogenético serão desenvolvidos, em continuidade a este estudo.

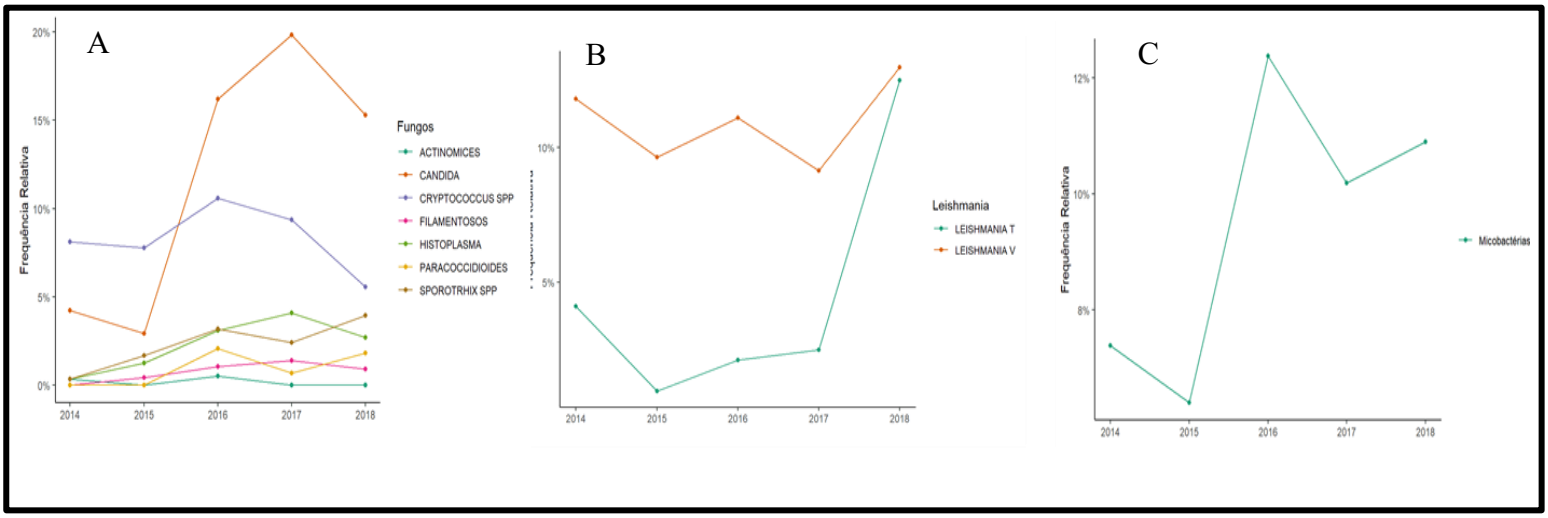
A descrição das características epidemiológicas relativas ao tempo possibilita obter-se o padrão comportamental de determinada doença a fim de caracterizar tendências, variações cíclicas e sazonalidade, segundo Hennekens e Buring (1987) (*apud* GALVANESE, WALDMAN, 2000, p. 1363). Por conseguinte, realizou-se uma análise epidemiológica dos agentes fúngicos mais frequentes nos pacientes da instituição, no período de 2014 a 2018. Foram incluídos resultados da cultura de fungos e das pesquisas de fungos pelos métodos direto a fresco (EMD), tinta da China e Panótico. Em relação às leishmanias, foram computadas apenas as pesquisas pelo método Panótico. E, no caso das micobactérias, foram contabilizadas as positividades na pesquisa de Ziehl Neelsen e na cultura de micobactéria. Além disso, exames realizados pelo mesmo paciente num intervalo maior que dois anos foram selecionados, nestes casos, os resultados positivos foram priorizados em relação aos resultados negativos. Além disso, agentes etiológicos diferentes isolados no mesmo paciente foram computados e considerados coinfecção.

Como resultado desta análise, realizada pela Consultoria em Estatística e Ciência de Dados (CECiDa), projeto LabEst, Departamento de Estatística – ICEx – UFMG, obteve-se o Gráfico 2 intitulado **"Análise epidemiológica do serviço de micologia do HEM, período de 2014 a 2018"**.

Verifica-se no Gráfico 2 A que durante todos os anos, os fungos mais frequentes são: *Candida* spp. e *Cryptococcus* spp, sendo que, no período entre 2014 a 2015, *Cryptococcu*s spp. foi o mais frequente, no entanto, a partir de 2016, predominou-se *Candida* spp.. Em seguida, foram *Histoplasma* spp. e *Sporothrix* spp., que tiveram o comportamento parecido até o ano 2016. O fungo *Paracoccidioides* spp. praticamente não apareceu em 2014 e 2015, mas a partir de 2016, há um pequeno aumento de sua identificação. Os Actinomicetos são os menos frequentes e mantém-se constantes. É relevante mencionar que antes do ano 2016, o isolamento de *Candida* spp. em amostras não estéreis, era reportado no laudo laboratorial como "Não houve crescimento de fungos considerados patogênicos", e por isso estes isolados não se encontram inclusos na análise para este período. No entanto, a partir de 2016, com a introdução do meio de cultura diferencial para leveduras, o CHROMagar®, iniciou-se a identificação presuntiva destas e consequentemente, liberação nos laudos laboratoriais.

No Gráfico 2 B, constata-se que durante todos os anos os casos de leishmaniose visceral sobressaíram os casos de tegumentar, contudo, nos anos anteriores a 2018, a diferença entre as duas, era bem significativa, mas, espantosamente, em 2018 a diferença foi muito pequena. Além disso, ambas leishmanioses demostraram aumento de frequência a partir do ano de 2017, porém o crescimento da leishmaniose tegumentar foi maior no período estudado.

Gráfico 2: Análise epidemiológica do serviço de micologia do HEM, período de 2014 a 2018. A) Epidemiologia dos fungos mais prevalentes; B) Epidemiologia de leishmaniose visceral e leishmaniose tegumentar e C) Epidemiologia de Micobactérias.



Fonte: CECiDa – Consultoria em Estatística e Ciência de Dados, projeto LabEst, Departamento de Estatística – ICEx – UFMG

Por fim, no Gráfico 2 C, percebe-se que a frequência de micobactérias varia ao longo dos anos, tendo seu máximo em 2016 e seu mínimo em 2015, a transição desses anos, foi que apresentou maior diferença de um ano para o outro, nas transições seguintes as oscilações foram menores, permanecendo com valores superiores ao encontrado no intervalo de 2014 a 2015.

Tendo em vista os resultados alcançados, através dos objetivos propostos e desenvolvidos no decorrer deste projeto, sobretudo na análise da frequência das micoses sistêmicas e subcutâneas, percebeu-se a necessidade da condução de um estudo clínico epidemiológico dos agentes fúngicos do HEM associados às manifestações clínicas, eficácia terapêutica, presença de coinfecções e desfecho clínico para uma maior compreensão da patogenia clínica de cada micose. Para isso, iniciou-se uma análise aprimorada, das micoses do HEM por meio de **Relato de casos clínicos e Série de casos clínicos**.

Dessa forma, serão considerados estudos de Relato de casos clínicos, quando o número de pessoas for inferior a 10. Nestes, serão feitos uma descrição aprofundada dos dados clínicos, laboratoriais, tratamento medicamentoso e desfecho clínico. Para a Série de casos clínicos, as micoses serão agrupadas por gênero fúngico, informações como: características demográficas, fatores sociais, fatores comportamentais, local, estilo de vida, terapia medicamentosa, presença de outras comorbidades e desfecho clínico serão coletadas. Posteriormente, serão realizadas análises estatísticas das variáveis obtidas para um estudo epidemiológico detalhado por meio da obtenção de frequência, média e mediana. Análises de associações e correlações serão realizadas para verificar fatores associados às micoses estudadas.

Atualmente, o **Relato de Murcomicose** apresentado anteriormente, e a **Série clínica de esporotricose** encontram-se em fase de elaboração para publicação. A seguir, resultados preliminares da Série clínica de esporotricose.

5.3 Série clínica de esporotricose

Casos de esporotricose no HEM no período de 2014 a 2020.

A esporotricose é uma infecção fúngica granulomatosa, causada pelo fungo termodimórfico da ordem *Ophiostomatales*, capaz de causar infecções em humanos e animais com manifestação clínica aguda ou crônica (CHAKRABARTI *et al*., 2014). Sabe-se que a forma clássica da doença está associada à inoculação traumática de propágulos do fungo *Sporothrix* spp. no tecido hospedeiro por meio de restos de plantas, solo e material orgânico contaminado. Entretanto, a transmissão zoonótica após mordidas ou arranhões por gatos tem sido frequentemente relatada (GREMIÃO *et al*., 2017). Neste contexto, a transmissão ocorre pela forma leveduriforme do fungo e está vinculada, predominantemente, à espécie *Sporothrix brasiliensis* (RODRIGUES *et al.,* 2013).

Estudos moleculares recentes possibilitaram a reclassificação do Complexo *Sporothrix schenckii* em clados: o clado patogênico constituído pelas espécies *S. brasiliensis, S. schenckii, S. globosa* e *S. luriei*, e o clado ambiental as espécies que raramente causam a doença aos mamíferos como: *S. chilensis, S. mexicana, S. pallida e S. stenoceras* (RODRIGUES *et al*., 2020a) .

As manifestações da esporotricose compreendem quatro formas clínicas distintas: linfocutânea, cutânea fixa, cutânea disseminada e extracutânea, sendo que a forma linfocutânea e a cutânea fixa são as mais comuns (FREITAS et al., 2012a). Embora indivíduos imunocomprometidos apresentem maior susceptibilidade a desenvolver a forma disseminada, esta também ocorre em pessoas sem comprometimento do sistema imunológico (FERNANDES *et al*., 2018). A forma cutânea disseminada é uma variante rara da esporotricose caracterizada por múltiplas lesões de pele em locais não contíguos sem o envolvimento extracutâneo. É importante ressaltar que em algumas situações é difícil identificar se a apresentação clínica se deve à disseminação de uma única lesão ou a múltiplas inoculações. As formas extracutâneas ou disseminadas são caracterizadas pelo envolvimento de órgãos e sistemas. Pele, olhos, pulmões, fígado, rim, coração, sistema nervoso central (SNC) e genitália já foram descritos como locais afetados (ALMEIDA-PAES *et al*., 2014; ALVES *et al*., 2020; FALCÃO *et al*., 2020; FREITAS *et al*., 2012a, 2015; VILELA *et al*., 2007)

No período de 2014 a março 2020, foram atendidos 57 casos de esporotricose confirmados por culturas fúngicas, no Hospital Eduardo de Menezes (HEM). A análise das características demográficas dos pacientes demonstrou que 30 (52,6%) pacientes pertenciam ao sexo feminino. Há uma faixa ampla da faixa etária dos indivíduos com esporotricose variando de 10 a 89 anos de idade. No entanto, percebe-se que a maioria dos casos estão na faixa de 30 a 59 anos, 31 (56,0%). Como o HEM é uma referência em doenças infectocontagiosas, constata-se atendimento a 21 municípios de MG, sendo que as maiores concentrações de casos se encontram nas grandes cidades com destaque para a capital. Em relação ao atendimento hospitalar, percebe-se que a modalidade ambulatorial supera em apenas 8,77% a hospitalar. Vale a pena ressaltar que a internação de pacientes, nestes casos, está associada ao tratamento intravenoso com o antifúngico anfotericina B, já o tratamento a nível ambulatorial se dá com medicação administrado pela via oral, normalmente o itraconazol. Outro ponto observado é uma tendência do aumento de casos com o decorrer dos anos, 2014 (1,75%) e 2019 (21,05%). Neste período, nota-se dois aumentos significativos e equivalentes nos números de casos, o primeiro 2015 a 2016 (8,78%) e o outro entre de 2017 a 2018 (8,77%).

As formas clínicas mais prevalentes, respectivamente, são cutânea localizada 18 (31,58%) e linfocutânea com 17 (29,82%). Para as formas disseminadas, temos a cutânea

disseminada 6 (10,53%), a disseminada (extracutânea) com 15 (26,32%) e esporotricose atípica 1 (1,75%), sendo que a soma de todas as formas disseminadas é de 22 (38,6%).

Tabela 19: Características demográficas dos pacientes do HEM, esporotricose 2014 a março 2020.

Variáveis	n	%
Sexo (n=57)		
Masculino	27	47,37%
Feminino	30	52,63%
Faixa etária (n= 57)		
10 a 19	8	14,00%
20-29	5	8,77%
30-39	11	19,25%
40-49	10	17,50%
50-59	11	19,25%
60-69	4	7,00%
70-79	6	10,50%
80-89	2	3,50%
Cidade (n=57)		
Belo Horizonte	19	33,32%
Betim	5	8,77%
Caeté	1	1,75%
Contagem	6	10,53%
Florestal	2	3,51%
Formiga	1	1,75%
Ibirité	5	8,77%
Igarapé	1	1,75%
João Pinheiro	2	3,51%
Mário Campos	2	3,51%
Nova Lima	1	1,75%
Ouro Branco	1	1,75%
Patrocínio	1	1,75%
Raposos	1	1,75%
Ribeirão das Neves	3	5,26%
Sabará	1	1,75%
Santa Luzia	2	3,51%
Santo Antônio do Amparo	1	1,75%
São Joaquim de Bicas	1	1,75%
Sarzedo	1	1,75%
Atendimento hospitalar (n=57)		
Ambulatorial	31	54,39%
Internação	26	45,62%

Fonte: Serviço hospitalar HEM 2014 a março 2020.

Tabela 20: Casos de esporotricose HEM por ano, 2014 a março 2020.

Casos por ano (n=57)	n	%
2014	1	1,75%
2015	3	5,26%
2016	8	14,04%
2017	9	15,79%
2018	14	24,56%
2019	12	21,05%
2020 (março)	10	17,54%

Fonte: Serviço hospitalar HEM 2014 a março 2020.

Percebe-se diferentes sítios anatômicos em relação ao local de isolamento do fungo da primeira amostra clínica coletada, visto que há casos não demonstrados aqui com até 4 sítios de isolamento. Os locais predominantes, em ordem decrescente, são: membro superior 21 (36,84%), mão 11 (19,30%), dedo 6 (10,53%) e membro inferior 5 (8,77%). Dentre os locais anatômicos inusitados para esta micose encontram-se: amostra respiratória 2 (3,51%), aspirado de medula óssea 1 (1,75%), linfonodo 1 (1,75), líquido cefalorraquidiano 1 (1,75%), sangue 1 (1,7550 e nariz 1 (1,75%). Além disso, as manifestações clínicas mais verificadas, respectivamente, são: acometimento de articulações 15 (26,32%), febre 14 (24,56%), emagrecimento 11 (19,30 %), alterações no pulmão 8 (14,04%), mal estar 7 (12,28), alterações neurológicas 6 (10,53%), dispneia 6 (10,53%), tosse 5 (8,77%) e alteração ocular 3 (5,26%). Os fatores predisponentes investigados foram: HIV 7 (12,28%) e Diabetes mellitus 11 (19,30%) relacionados à comorbidades, etilismo 9 (15,79%), contato com gatos 33 (57,89%), contato com jardim e/ou madeira 6 (10,52%) e picada de inseto 5 (8,77%). Atentando para o tratamento instituído, têm-se itraconazol 49 (85,96%), anfotericina B 21 (36,84%) e Megluina Antimoniato (Glucantine®) 4 (7,02%). É importante mencionar que este último tratamento, utilizado para Leishmaniose tegumentar (LT), trata-se a casos diagnosticados com LT, antes do resultado micológico. E finalmente, constata-se que 5/57 (8,77%) dos casos evoluíram para o óbito.

Tabela 21: Variáveis clínicas dos pacientes diagnosticados com esporotricose no HEM, 2014 a março 2020.

Variáveis Clínicas	**n**	**%**
Isolado fúngico na primeira amostra do paciente (n=57)		
Aspirado de medula óssea	1	1,75%
Amostra respiratória	2	3,51%
Cervical	2	3,51%
Dedo	6	10,53%
Flanco	1	1,75%
Líquido cefalorraquidiano	1	1,75%
Linfonodo	1	1,75%
Mandíbula	2	3,51%
Mão	11	19,30%
Membro inferior	5	8,77%
Membro superior	21	36,84%
Nádega	1	1,75%
Nariz	1	1,75%
Sangue	1	1,75%
Tronco	1	1,75%
Forma clínica		
Cutânea localizada	18	31,58%
Cutânea disseminada	6	10,53%
Disseminada	15	26,32%
Esporotricose atípica	1	1,75%
Linfocutânea	17	29,82%%
Manifestações clínicas		
Tosse	5	8,77%
Dispneia	6	10,53%
Pulmonar	8	14,04%
Mal-estar	7	12,28%
Febre	14	24,56%
Emagrecimento	11	19,30%
Articulação	15	26,32%
Neurológico	6	10,53%
Ocular	3	5,26%
Desfecho clínico		
Óbito	5	8,77%
Fatores predisponentes investigados		
HIV	7	12,28%
Diabetes mellitus	11	19,30%
Etilista	9	15,79%
Contato com gato	33	57,89%
Jardim/madeira	6	10,52%
Picada de inseto	5	8,77%

Fonte: Serviço hospitalar HEM 2014 a marco2020.

Tabela 22: Tratamento dos pacientes diagnosticados com esporotricose HEM 2014 a março 2020.

Tratamento medicamentoso	n	%	Perda/Ign	%
Itraconazol	49	85,96%	2	3,51%
Anfotericina B	21	36,84%	2	3,51%
Megluina Antimoniato (Glucantine®)	4	7,02%		

Fonte: Serviço hospitalar HEM 2014 a 2020.

Como dito anteriormente, o presente estudo encontra-se em andamento. No entanto, os dados preliminares apresentados nos permitem fazer algumas considerações. A esporotricose outrora relatada como uma micose de acometimento cutâneo e linfocutâneo, com raros casos disseminados, demonstrou estar fortemente relacionada com a forma disseminada grave por meio da taxa de internação igual a 45,62% (26/57), isolados fúngicos provenientes de amostras sistêmicas 38,6% (22/57) e uso de anfotericina B em 36,84% (21/57) dos casos. Outro ponto observado é a presença do gato 57,89% (33/57) em mais da metade dos casos relatados. Dessa forma, os dados obtidos demonstram ser compatíveis com a emergência de esporotricose relatada no RJ (BARROS *et al*., 2004; DE LIMA BARROS *et al*., 2010; FALCÃO *et al*., 2020; FREITAS *et al*., 2012a, 2012b) .

Não obstante, a condução desta série de casos clínicos de esporotricose aumentou mais as expectativas a respeito desta intrigante micose emergente. E, as recentes publicações sobre o assunto (DE CARVALHO *et al*., 2020; DELLA TERRA *et al*., 2017; RODRIGUES *et al*., 2020b; RODRIGUES; DE HOOG; DE CAMARGO, 2015) acabaram por culminar nossa curiosidade para a compreensão do curso desta micose.

Mediante a isto, projeta-se estudos laboratoriais adicionais com os isolados fúngicos provenientes do diagnóstico micológico dos pacientes do HEM, a fim de se obter uma elucidação científica dos agentes causadores de todas as micoses como: identificação molecular em gênero e espécie, estudo filogenético, susceptibilidade aos antifúngicos, fatores de virulência e interação do fungo com o hospedeiro. Além disso, com o estabelecimento de técnicas moleculares em nossa instituição, temos como perspectiva futura, a padronização de técnicas moleculares espécie – específica que permitam o diagnóstico do fungo em gênero e espécie diretamente de amostras clínicas, para um diagnóstico rápido e eficaz que irá contribuir significativamente para o desfecho clínico do paciente.

6. CONCLUSÃO

O estudo dos dados laboratoriais relativos aos exames micológicos do HEM, no período de 2014 a 2019, possibilitou traçar um panorama da evolução do serviço micológico prestado pelo laboratório da instituição. A análise estatística das informações, a partir da compreensão da frequência e distribuição dos resultados obtidos, possibilitou a identificação de futuros indicadores como, por exemplo, a taxa de exames não realizados de amostras recebidas. Indicador capaz de avaliar o alinhamento e integração da equipe laboratorial nas fases pré-analítica, analítica e pós- analítica. Além disso, viabilizou a avaliação aprimorada do potencial impacto das ações adotadas no processo de reestruturação do setor. Assim, evidenciou-se que a organização estrutural, processual e de recursos humanos, juntamente com programas de capacitação e o uso de metodologias baseadas em evidências científicas impactam positivamente e de forma relevante no desempenho final do serviço prestado. Este estudo também permitiu verificar que as técnicas laboratoriais utilizadas para o diagnóstico micológico possuem limitações inerentes a cada metodologia, e que o ideal é o uso associado destas. Inusitadamente, demonstrou a emergência das doenças fúngicas no Estado de Minas Gerais em especial a esporotricose, causada pelo *Sporothrix* spp., com manifestações disseminadas atípicas. Esse achado postula para a necessidade da introdução de técnicas moleculares para a identificação do fungo a nível de espécie, a fim de propiciar um tratamento medicamentoso mais assertivo, minimizar a seleção de microrganismos resistentes e ainda colaborar para estudos epidemiológicos, possibilitando ações mais efetivas no sistema público de saúde. Além do mais, intercede para a padronização de técnicas PCR em Tempo Real, a partir das amostras clínicas para um diagnóstico mais ágil e sensível. Dessa forma, este trabalho evidenciou a importância do Hospital Eduardo de Menezes à sociedade frente às micoses sistêmicas, fornecendo respostas rápidas e eficazes para a promoção da saúde no Estado de Minas Gerais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADENIS, A. A. et al. Burden of HIV-associated histoplasmosis compared with tuberculosis in Latin America: a modelling study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 10, p. 1150–1159, 2018.

ALMEIDA-PAES, R. et al. Sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: Sporothrix brasiliensis Is Associated with Atypical Clinical Presentations. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 9, 2014.

ALVES, M. D. M. et al. Fatal pulmonary sporotrichosis caused by sporothrix brasiliensis in Northeast Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 5, p. 1–11, 2020.

ANVISA. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada á Assistência á Saúde. p. 44, 2013a.

ANVISA. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 4: Procedimentos Laboratoriais: da requisição do exame à análise microbiológica e laudo final/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Microbiologia Clínica Para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde**, v. 9, p. 95, 2013b.

ANVISA, A. N. DE V. SANITÁRIA. RDC nº 302, de 13 de outubro de 2005. v. 2005, p. 1–9, 2005.

ARANTES, T. D. et al. Environmental Mapping of Paracoccidioides spp. in Brazil Reveals New Clues into Genetic Diversity, Biogeography and Wild Host Association. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 4, p. 1–18, 2016.

ARNOLD, P.; AHEARN, D.G. The systematics of the genus Prototheca with a description of a new species P. filament. **Mycopathologia Netherlands**, v.64, p.265-275, 1972.

ARRILLAGA-MONCRIEFF, I. et al. Different virulence levels of the species of Sporothrix in a murine model. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 15, n. 7, p. 651–655, 2009.

BARROS, M. B. DE L. et al. Cat-transmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: description of a series of cases. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 38, n. 4, p. 529–535, fev. 2004.

BARROZO, L. V. et al. First description of a cluster of acute/subacute paracoccidioidomycosis cases and its association with a climatic anomaly. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 3, p. 1–5, 2010.

BELLISSIMO-RODRIGUES, F.; MACHADO, A. A.; MARTINEZ, R. Paracoccidioidomycosis epidemiological features of a 1,000-cases series from a hyperendemic area on the southeast of Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 85, n. 3, p. 546–550, 2011.

BORGES, A. S. et al. Histoplasmose em pacientes imunodeprimidos: estudo de 18 casos observados em Uberlândia, MG. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, n. 2, p. 119–124, 1997.

BRASIL et al. Proposta de Vigilância e Controle da Coccidioidomicose. p. 18, 2011.

BROWN, G. D. et al. Tackling human fungal infections. Science 336, 647. 2012.

CARRARO, P.; PLEBANI, M. Errors in a stat laboratory: Types and frequencies 10 years later. **Clinical Chemistry**, v. 53, n. 7, p. 1338–1342, 2007.

CHATURVEDI, V.; CHATURVEDI, S. *Cryptococcus gattii*: a resurgent fungal pathogen. Review. **Trends in Microbiology**, v. 19, p. 564-571, 2011.

CHAKRABARTI, A. et al. **Global epidemiology of sporotrichosis Medical Mycology** Oxford University Press, 16 dez. 2014.

CHAVES, C. D. Controle de qualidade no laboratório de análises clínicas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 46, n. 5, p. 352–352, out. 2010.

CHEN, S. C.-A., Meyer, W. & Sorrell, T. C. *Cryptococcus gattii* **Infections. Clin Microbiol** Rev 27, 980–1024, 2014.

COLOMBO, A. L. et al. Epidemiology of candidemia in Brazil: A nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 8, p. 2816–2823, 2006.

COLOMBO, A. L. et al. Brazilian guidelines for the management of candidiasis - a joint meeting report of three medical societies: Sociedade Brasileira de Infectologia, Sociedade

Paulista de Infectologia and Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 3, p. 283–312, 2013.

CONTROLLAB. **Gestão da fase analítica do laboratório: como assegurar a qualidade na prática v.3**. [s.l: s.n.]. v. 3

COSTA, M. C. et al. Social, environmental and microbiologic aspects of endemic mycoses in Brazil. **New Microbes and New Infections**, v. 29, p. 100496, 2019.

DA COSTA-LLANOS, F. A.; MARTINEZ, C.; AZULAY, L. PLECT: Enfermedades tropicales de manifestación verrucosa. **Revista Chilena de Dermatología**, v. 34, n. 3, p. 89–94, 2019.

DE ALBUQUERQUE, M. V. et al. Regional health inequalities: Changes observed in Brazil from 2000-2016. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 22, n. 4, p. 1055–1064, 2017.

DE CARVALHO, J. A. et al. Genome-wide mapping using new AFLP markers to explore intraspecific variation among pathogenic sporothrix species. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 7, p. 1–26, 2020.

DE LIMA BARROS, M. B. et al. Sporotrichosis: Development and challenges of an epidemic. **Revista Panamericana de Salud Publica/Pan American Journal of Public Health**, v. 27, n. 6, p. 455–460, 2010.

DE OLIVEIRA, J. C. Micologia Médica ao Microscópio MICOLOGIA MÉDICA AO MICROSCÓPIO. v. II, p. 1–34, 2015.

DE SOUZA, M. C. et al. Normas para a gestão da qualidade em laboratórios de análises clínicas. **Espacios**, v. 37, n. 6, p. 363–368, 2016.

DELLA TERRA, P. P. et al. Exploring virulence and immunogenicity in the emerging pathogen Sporothrix brasiliensis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 8, p. 1–23, 2017.

DEMENTHON, K.; EL-KIRAT-CHATEL, S.; NOËL, T. Development of an in vitro model for the Multi-Parametric quantification of the cellular interactions between Candida yeasts and phagocytes. **PLoS ONE**, v. 7, n. 3, 2012.

DENNING, D. W. et al. Infectious disease. How to bolster the antifungal pipeline. **Science** 347, 1414–1416. 2015.

Doenças infecciosas e parasitárias. **Ministério da Saúde**, v. 8º edição, p. 192, 2010.

DONABEDIAN, H. et al. Disseminated cutaneous and meningeal sporotrichosis in an AIDS patient. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 18, n. 2, p. 111–115, 1994.

FALCÃO, E. M. M. et al. Zoonotic sporotrichosis with greater severity in Rio de Janeiro, Brazil: 118 hospitalizations and 11 deaths in the last 2 decades in a reference institution. **Medical mycology**, v. 58, n. 1, p. 141–143, 2020.

FERNANDES, B. et al. A case of disseminated sporotrichosis caused by Sporothrix brasiliensis. **Medical Mycology Case Reports**, v. 21, n. March, p. 34–36, 2018.

FERREIRA M.S., BORGES A.S. Histoplasmosis. **Rev Soc Bras Med Trop**. 2009; 42:192-198.

FERNANDES, G. F. et al. Characterization of virulence profile, protein secretion and immunogenicity of different Sporothrix schenckii sensu stricto isolates compared with S. globosa and S. brasiliensis species. **Virulence**, v. 4, n. 3, p. 241–249, 2013.

FIRACATIVE C. et al. The status of cryptococcosis in Latin America**.** ***Mem. Inst. Oswaldo Cruz*****.** vol.113, n.7, e170554, 2018.

FHEMIG, Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais. 2020. Disponível em: **http://www.fhemig.mg.gov.br/**. Acesso em: 11/03/2020.

FRANCESCONI DO VALLE, A. C. et al. Paracoccidioidomycosis after highway construction, Rio de Janeiro, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 11, p. 1917–1919, 2017.

FREDRICKS, D. N. et al. Rhinosporidium seeberi : A Human Pathogen from a **Novel Group of Aquatic Protistan Parasites**. v. 6, n. 3, p. 273–282, 2000.

FREITAS, D. F. S. et al. Sporotrichosis in HIV-infected patients: Report of 21 cases of endemic sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil. **Medical Mycology**, v. 50, n. 2, p. 170–178, 2012a.

FREITAS, D. F. S. et al. Sporotrichosis in HIV-infected patients: report of 21 cases of endemic sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil. **Medical mycology**, v. 50, n. 2, p. 170–178, fev. 2012b.

FREITAS, D. F. S. et al. Sporotrichosis in the Central Nervous System Caused by Sporothrix brasiliensis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 61, n. 4, p. 663–664, 2015.

FUENTEFRIA, A. M. et al. Atlas de Micologia Médica. **Atlas de Micologia Médica**, 2019.

FULLER, D. D. et al. Evaluation of BACTEC MYCO/F Lytic medium for recovery of mycobacteria, fungi, and bacteria from blood. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 8, p. 2933–2936, 2001.

GALVANESE, Fernando, WALDMAN, Eliseu. Fundamentos da Epidemiologia para o Controle das Infecções Hospitalares. *In:* FERNANDES, Tadeu, VAZ Maria, RIBEIRO, Nelson: **Infecção Hospitalar e suas Interfaces na Área da Saúde**. São Paulo: Atheneu, 2000. p. (1353) (1370).

GEHRING, G. et al. Candidemia: Revisão Bibliográfica. **Journal of Infection Control**, v. 4, n. 4, p. 1–19, 2016.

GREMIÃO, I. D. F. et al. **Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human TransmissionPLoS Pathogens**Public Library of Science,1 jan. 2017.

GUERRA, B. T. et al. Histoplasmosis Outbreaks in Brazil: Lessons to Learn About Preventing Exposure. **Mycopathologia**, v. 0123456789, 2019.

HAWKSWORTH, D. L.. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. **Mycol. Res.** 105, 1422–1432., 2001.

HALLWORTH, M. J. The “70% claim”: What is the evidence base? **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 48, n. 6, p. 487–488, 2011.

HOSSEINNEZHAD A and RAPOSE A. c**ryptococccal meningoencephalitis after H1N1 influenza.** *BMJ Case Rep.,*bcr1120115224. 2012.

KAUFFMAN, C. A. Histoplasmosis: A clinical and laboratory update. Clinical Microbiology Reviews, v. 20, n. 1, p. 115–132, 2007. LASS-FLÖRL, C.; MAYR, A. Human protothecosis. **Clinical Microbiology** Reviews. v. 20, n.2, p. 230–242, 2007.

LEGISLAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução - Rdc Nº. 50, De 21 De Fevereiro De 2002. **Agência Naacional de Vigilância Sanitária**, n. I, p. 1–125, 2002.

LIPPI, G. et al. Preanalytical quality improvement: In quality we trust. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 51, n. 1, p. 229–241, 2013.

MARCOS, C. M. et al. Anti-immune strategies of pathogenic fungi. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 6, n. NOV, p. 1–22, 2016.

MARTINEZ, R. New trends in paracoccidioidomycosis epidemiology. **Journal of Fungi**, v. 3, n. 1, p. 1–13, 2017.

MELHEM, Marcia, GIANNIN, Maria, ALMEIDA, Ana. Aplicação de Métodos de Biologia Molecular em Micologia Molecular. *In*: ZAITZ, Clarisse. **Compêndio de Micologia Médica.** Rio de Janeiro: Guananara Koognan, 2010. p.(53)-(67).

MEZZARI A, et al. Criptococose em um hospital público de Porto Alegre: dados epidemiológicos. **J Infect Control**, v. 2, p. 135-9, 2013.

MORA DJ, et al. Clinical, epidemiological and outcome features of patients with cryptococcosis in Uberaba, Minas Gerais, Brazil. **Mycopathol**, v. 173, p. 321-7, 2012.

MOREIRA, J. A. S.; FREITAS, D. F. S.; LAMAS, C. C. The impact of sporotrichosis in HIV-infected patients: a systematic review. **Infection**, v. 43, n. 3, p. 267–276, jun. 2015.

MOREIRA T. A, et al. Criptococose: estudo clínico-epidemiológico, laboratorial e das variedades do fungo em 96 pacientes. **Rev Soc Bras Med Trop,** v. 39, p. 255-8, 2006.

MULLER, Helena, LELLIS, Rute. Histopatologia das Principais Doenças Estudadas em Micologia Médica. *In*: ZAITZ, Clarisse. **Compêndio de Micologia Médica.** Rio de Janeiro: Guananara Koognan, 2010. p.(42)-(49).

NACHER, M. et al. How many have died from undiagnosed human immunodeficiency virus-associated histoplasmosis, a treatable disease? Time to act. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 90, n. 2, p. 193–194, 2014.

NEGRONI, R. Cryptococcosis. **Clinics in Dermatology**, v. 30, p. 599-609, 2012.

OLIVEIRA, J. C. DE. Tópicos em Micologia Médica. Rio de Janeiro, 2013. Disponível em:https://controllab.com/pdf/topicos_micologia_4ed.pdf/. Acessado em 15/08/2020.

OLIVEIRA, J. C. DE. **Paracoccidioidomicose (Micose de Lutz ou Blastomicose Sul Americana)**. Disponível em:https://controllab.com/pdf/topicos_micologia_4ed.pdf/. Acessado em 15/08/2020.

OLIVEIRA L.V.N., COSTA M.C., MAGALHÃES T.F.F., et al. **Influenza A Virus as a predisposing factor for cryptococcosis.***Front Cell Infect Microbiol., v.26*;7:419. 2017.

OLIVEIRA, M. M. E. et al. Cerebrospinal fluid PCR: A new approach for the diagnosis of CNS sporotrichosis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 7, p. 1–4, 2020.

PAPPAS, P. G. et al. Invasive fungal infections among organ transplant recipients: results of the transplant-associated infection surveillance network (Transnet). **Clinical Infectious Diseases**, v. 50, n. 8, p. 1101–1111, 2010.

PEREIRA, P. DE A. A importância da qualidade em laboratórios clínicos: Uma visão das dificuldades enfrentadas durante o processo de sua implantação. **Instituto Lauro de Souza Lima**, 2014.

PLEBANI, M. The detection and prevention of errors in laboratory medicine. **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 47, n. 2, p. 101–110, 2010.

PLEBANI, M. Quality indicators to detect pre-analytical errors in laboratory testing. **Clinical Biochemist Reviews**, v. 33, n. 3, p. 85–88, 2012.

PLEBANI, M.; LIPPI, G. Improving diagnosis and reducing diagnostic errors: The next frontier of laboratory medicine. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 54, n. 7, p. 1117–1118, 2016.

QUEIROZ-TELLES, F. et al. Chromoblastomycosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 30, n. 1, p. 233–276, 2017a.

QUEIROZ-TELLES, F. et al. Neglected endemic mycoses. **The Lancet. Infectious diseases**, v. 17, n. 11, p. e367–e377, nov. 2017b.

QUEIROZ-TELLES, F.; BUCCHERI, R.; BENARD, G. Sporotrichosis in immunocompromised hosts. **Journal of Fungi**, v. 5, n. 1, p. 1–23, 2019.

RAJASINGHAM, R. et al. Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 8, p. 873–881, 2017

REIS, M. A.dos; REZENDE, C.A,F. de; NEUFELD, P. M.. Controle externo da qualidade em micologia: avaliação do desempenho de laboratórios de análises clínicas participantes do programa nacional de controle de qualidade / External quality control in mycology: performance evaluation of clinical analysislaboratories participating in thenational program of quality control. **Rev. bras.anal. Clin**.. 2015; 47(1-2): 25-33.

RESTREPO, A.; MCEWEN, J. G.; CASTAÑEDA, E. The habitat of Paracoccidioides brasiliensis: How far from solving the riddle? **Medical Mycology**, v. 39, n. 3, p. 233–241, 2001.

RIBEIRO, L. C. et al. Micoses sistêmicas: Fatores associados ao óbito em pacientes com infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, Cuiabá, Estado de Mato Grosso, 2005-2008. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 6, p. 698–705, 2009.

RIBEIRO, P.M.,te al. Isolamento de *Candida* spp. com utilização de meio de cultura cromogênico CHROMagar Candida. **Braz Dent Sci** 2009 out./dez.; 12 (4): 40-45 Disponível em: http:www. https://plastlabor.com.br/blog/isolamento-candida/. Acesso em: 26/09/2020.

RIBEIRO, Haroldo. 5S: Um roteiro para uma implantação bem sucedida. Salvador, BA: **Casa da qualidade**, 1994. P18 e 19.

RODRIGUES, A. M. et al. Phylogenetic Analysis Reveals a High Prevalence of Sporothrix brasiliensis in Feline Sporotrichosis Outbreaks. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 6, 2013.

RODRIGUES, A. M. et al. The threat of emerging and re-emerging pathogenic Sporothrix species. **Mycopathologia**, v. 0, 2020a.

RODRIGUES, A. M. et al. The global epidemiology of emerging Histoplasma species in recent years. **Studies in Mycology**, n. xxxx, p. 1–21, 2020b.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, G. S.; DE CAMARGO, Z. P. Molecular Diagnosis of Pathogenic Sporothrix Species. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 12, p. 1–22, 2015.

RODRIGUES MV, CARÂP LJ, El-WARRAK LO, Rezende TB. **Qualidade e acreditação em saúde**. 1ed. Rio de Janeiro: Editora FGV, 2011. 152p.4.

ROTZ, L. D. et al. Disseminated Sporotrichosis with Meningitis in a Patient with AIDS. **Infectious Diseases in Clinical Practice**, v. 5, n. 9, 1996.

RUIZ, L..Micoses: Classificação Clínica. *In*: ZAITZ, Clarisse. **Compêndio de Micologia Médica.** Rio de Janeiro: Guananara Koognan, 2010. p.(138)-(140).

SA, S. D. E. E. D. E.; GERAIS, D. E. D. E. M. Resolução ses/mg nº 7044, de 03 de março de 2020. v. 3, 2020.

SCHNEIDER, F.; MAURER, C.; FRIEDBERG, R. International Organization for Standardization (ISO) 15189. **Annals of Laboratory Medicine**, v. 37, p. 365, 2017.

SCIACOVELLI, L. et al. Performance criteria and quality indicators for the post-analytical phase. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 54, n. 7, p. 1169–1176, 2016.

SHEN, Y. Z. et al. Invasive fungal infections among inpatients with acquired immune deficiency syndrome at a Chinese university hospital. **Mycoses**, v. 50, n. 6, p. 475–480, 1 nov. 2007.

SUGIURA, Y. et al. 2017. Difficulty in diagnosing chronic meningitis caused by capsuledeficient Cryptococcus neoformans. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2005 Oct;76(10):1460-.Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16170098. Acesso 28/08/2020.

SILVA, C. et al. **ISO 9001:2000: Sistema de Gestão da Qualidade para Operações de Produção e Serviços**. Disponívem em:http:// https://www.researchgate.net/publication/317545111_ISO_90012000_Sistema_de_Gestao_da_Qualidade_para_Operacoes_de_Producao_e_Servicos/ Acesso em 10/03/2020.

SILVA-VERGARA, M. L. et al. Case report: Disseminated sporothrix brasiliensis infection with endocardial and ocular involvement in an HIV-infected patient. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 86, n. 3, p. 477–480, 2012.

SOUZA LK, et al. Clinical and microbiological features of cryptococcal meningitis. **Rev Soc Bras Med Trop**. v. 46, p. 343-7, 2013.

SLOAN, D. et al. Treatment of acute cryptococcal meningitis in HIV infected adults, with an emphasis on resource-limited settings. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 4, 2008.

VANTI, N. Ambiente de qualidade em uma biblioteca universitária: aplicação do 5S e de um estilo participativo de administração. **Ciência da Informação**, v. 28, n. 3, p. 333–339, dez. 1999.

VIDAL, M. Sorologia das Micoses. *In*: ZAITZ, Clarisse. **Compêndio de Micologia Médica.** Rio de Janeiro: Guananara Koognan, 2019. p.(77)-(82).

VILELA, R. et al. **Cutaneous and meningeal sporotrichosis in a HIV patient**. [s.l: s.n.]. v. 24.

ZAITZ, Clarisse. Introdução ao Estudo da Micologia Médica. *In*: ZAITZ, Clarisse. **Compêndio de Micologia Médica.** Rio de Janeiro: Guananara Koognan, 2019. p.(1)-(2).

ZHANG, M. et al. Fast diagnosis of sporotrichosis caused by sporothrix globosa, Sporothrix schenckii, and sporothrix brasiliensis based on multiplex real-time PCR. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 2, 2019.

ANEXO 01: ASPECTOS ÉTICOS

A. APROVAÇÕES DO PROJETO CONEP.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Plataforma Brasil

Continuação do Parecer: 4.204.205

Outros	TCUD_hem.pdf	02/01/2019 22:46:23	DANIEL DE ASSIS SANTOS	Aceito
Outros	TCUD.pdf	13/12/2018 09:10:42	DANIEL DE ASSIS SANTOS	Aceito
Outros	respostaCOEP13122018.pdf	13/12/2018 09:04:57	DANIEL DE ASSIS SANTOS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_vanessa_mp_13122018.pdf	13/12/2018 09:02:25	DANIEL DE ASSIS SANTOS	Aceito
Outros	susana.pdf	04/10/2018 16:25:55	DANIEL DE ASSIS SANTOS	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	coparticipante.pdf	28/09/2018 14:24:54	DANIEL DE ASSIS SANTOS	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	departamento.pdf	28/09/2018 14:24:27	DANIEL DE ASSIS SANTOS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projetomestradofinal.pdf	27/09/2018 21:25:17	DANIEL DE ASSIS SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle.pdf	27/09/2018 21:13:10	DANIEL DE ASSIS SANTOS	Aceito
Orçamento	orcamento.pdf	27/09/2018 21:12:09	DANIEL DE ASSIS SANTOS	Aceito
Folha de Rosto	rosto.pdf	27/09/2018 21:11:07	DANIEL DE ASSIS SANTOS	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

BELO HORIZONTE, 10 de Agosto de 2020

Assinado por:
Crissia Carem Paiva Fontainha
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos,6627 2º Ad SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

B. APROVAÇÃO DO PROJETO CEP/HEM.

HOSPITAL EDUARDO DE MENEZES/ HEM/ FHEMIG

Plataforma Brasil

Continuação do Parecer: 3.955.905

Outros	TCUD_hem.pdf	02/01/2019 22:46:23	DANIEL DE ASSIS SANTOS	Aceito
Outros	TCUD.pdf	13/12/2018 09:10:42	DANIEL DE ASSIS SANTOS	Aceito
Outros	respostaCOEP13122018.pdf	13/12/2018 09:04:57	DANIEL DE ASSIS SANTOS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_vanessa_mp_13122018.pdf	13/12/2018 09:02:25	DANIEL DE ASSIS SANTOS	Aceito
Outros	susana.pdf	04/10/2018 16:25:55	DANIEL DE ASSIS SANTOS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projetomestradofinal.pdf	27/09/2018 21:25:17	DANIEL DE ASSIS SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle.pdf	27/09/2018 21:13:10	DANIEL DE ASSIS SANTOS	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

BELO HORIZONTE, 06 de Abril de 2020

Assinado por:
JADER BERNARDO CAMPOMIZZI
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Dr.Cristiano Rezende, 2213
Bairro: Bonsucesso **CEP:** 30.622-020
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3328-5084 **Fax:** (31)3328-5006 **E-mail:** hem.cep@fhemig.mg.gov.br

C. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE.

TCLE BASEADO NAS DIRETRIZES CONTIDAS NA RESOLUÇÃO CNS Nº466/2012, MS.

Prezado (a) Senhor (a),_____esta pesquisa é sobre: **"A importância de um Serviço Qualificado de Micologia em um Hospital de Referência em doenças infectocontagiosas e dermatologia sanitária do Estado de Minas Gerais: publicação de casos clínicos"** e está sendo desenvolvida por Vanessa Caroline Randi Magalhães, do Curso de mestrado profissional da Universidade Federal de Minas Gerais, sob a orientação do Professor e doutor Daniel de Assis Santos.

O objetivo do estudo é identificar os pacientes do Hospital Eduardo de Menezes (HEM) e do Hospital Júlia Kubitschek (HJK) com alguma micose sistêmica (interna) e/ou subcutânea (pele) para realização de estudos epidemiológicos e analíticos. Para isso, coletaremos informações clínicas, demográficas e laboratoriais presentes em prontuários e dados brutos laboratoriais. Quando disponível nos laboratórios do HEM e do HJK, utilizaremos sobras do isolado fúngico responsável por seu diagnóstico micológico e sobras de amostras clínicas para pesquisas analíticas complementares e de diagnóstico micológico por biologia molecular. Caso não tenha amostra clínica disponível para aproveitamento, o Senhor(a), poderá colaborar autorizando a coleta da amostra clínica para o presente estudo. Caso você concorde em participar, com essa amostra adicional, vamos ter que realizar coleta de sangue. Coletaremos no máximo duas colheres de sopa (20 mL) de sangue.

A finalidade deste trabalho é contribuir para obter a epidemiologia das micoses sistêmicas e subcutâneas dos pacientes dos hospitais HEM e HJK e associá-la à fatores de risco. Obter informações adicionais sobre o agente causador da micose, como Caracterização Molecular, Concentração Inibitória Mínima e Transmigração na barreira hematoencefálica. Colaborar para o desenvolvimento de técnicas aprimoradas e inovadoras para o diagnóstico rápido e acurado das micoses sistêmicas. Solicitamos a sua colaboração para consultar seu prontuário e colher informações que sejam relevantes para o presente estudo. Utilizar isolados fúngicos obtidos do seu diagnóstico micológico, utilizar sobras de amostras clínicas utilizadas em sua assistência hospitalar, autorizar a coleta de para pesquisas complementares na UFMG.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisadora Vanessa Caroline Randi Magalhães. Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano, nem haverá modificação na assistência que vem recebendo na Instituição.

Os riscos da pesquisa serão mínimos. Não haverá nenhuma intervenção médica adicional no paciente participante do estudo. Serão utilizados apenas os dados clínicos obtidos de consulta ao seu prontuário. Serão utilizadas sobras de isolados fúngicos

provenientes de seu diagnóstico micológico. Serão utilizadas, preferencialmente, sobras de amostras biológicas utilizadas em sua assistência hospitalar. No entanto, há a possibilidade de solicitar amostra sanguínea adicional. Neste caso, a retirada de amostras de sangue pode causar dor, vermelhidão ou manchas roxas. Para minimizar todos estes riscos, as coletas serão realizadas por pessoal treinado, com experiência e o material sempre será descartável e esterilizado. O pesquisador responsável pelo projeto, bem como toda a equipe de pesquisadores se comprometem a resguardar a confidencialidade, sigilo, privacidade, proteção de imagem e a não estigmatização dos pacientes, garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas inclusive em termos de autoestima de prestígio econômico ou financeiro. Para preservar o seu anonimato, no lugar do seu nome constará apenas o número de sua identificação do estudo na amostra. Se você tiver alguma preocupação ou dúvidas sobre o envio das amostras (ou quiser retirar sua permissão para o armazenamento delas), você pode entrar em contato com o pesquisador no hospital ou através do telefone disponibilizado nesse termo. A qualquer momento as suas amostras podem ser destruídas, se for da sua vontade.

Os isolados fúngicos e amostras biológicas, coletadas durante este estudo serão armazenadas um Biorrepositório na UFMG (instalação de armazenamento nos laboratórios do estudo) de acordo com as normas do Conselho Nacional de Saúde que regulam o armazenamento de material biológico humano ou uso de material armazenado em pesquisas. As amostras podem ser armazenadas por até 10 anos (Resolução nº441/2011), podendo ser utilizadas em estudos futuros, desde que estes projetos sejam aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa, e você assine um novo termo de consentimento desta nova pesquisa.

É importante que você entenda, que a sua participação é totalmente voluntária e, em qualquer momento, você poderá solicitar que seja retirado dele. Este documento explica como será o estudo e qual a sua participação. Por favor, leia-o atentamente. Leve o tempo necessário para decidir se realmente deseja que participar do estudo. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar participar do estudo, rubrique cada página e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. A autorização pode se dar por escrito, gravação de conversa telefônica ou mensagens de texto e de voz. Não assine esse termo caso você não tenha entendido completamente os procedimentos e riscos do estudo, ou caso não esteja completamente satisfeito com as explicações dadas a você.

Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

_____

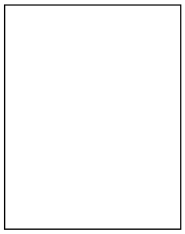
Pesquisador responsável

Eu,_____, portador do documento de identidade_____fui informado (a) dos objetivos, métodos, riscos e benefícios do presente estudo. Sei que a qualquer momento poderei solicitar nova informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar. Declaro que concordo em participar desta pesquisa.

Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido assinado por mim e pelo pesquisador, que me deu a oportunidade de ler e esclarecer todas as minhas dúvidas.

Belo Horizonte,____de_____de_____

Impressão dactiloscópica



_____

Assinatura do participante ou responsável legal

( ) Concordo que o meu material biológico seja utilizado somente para esta pesquisa.

( ) Concordo que o meu material biológico possa ser utilizado em outras pesquisas, mas serei comunicado pelo pesquisador novamente e assinarei outro termo de consentimento livre e esclarecido que explique para que será utilizado o material.

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor entrar em contato: Comitê de Ética COEP-UFMG - Comissão de Ética em Pesquisa da UFMG Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005. Campus Pampulha. Belo Horizonte, MG, Brasil. CEP: 31270-901. E-mail: coep@prpq.ufmg.br. Tel: (31) 34094592.

Hospital Eduardo de Menezes Comitê de Ética: R. Dr. Cristiano Rezende, 2213 - Bonsucesso, Belo Horizonte - MG, CEP: 30622-020 / Belo Horizonte – MG, Hospital Eduardo de Menezes. Telefone:(31) 33285034.

Pesquisador Daniel de Assis Santos: professor do Departamento de Microbiologia da UFMG, Laboratório de Micologia – ICB/UFMG. E-mail: dasufmg@gmail.com.

Pesquisadora Vanessa Caroline Randi Magalhães, Telefone:(31) 33285034, e-mail: vanessarandimagalhaes@yahoo.com.br.

ANEXO 02: QUADRO 1: PLANILHA DE NOTIFICAÇÕES DA VISA – LABORATÓRIO MICOLOGIA HEM, 2013 A 2015.

Quadro 1: Planilha de Notificações da VISA – Laboratório Micologia HEM, 2013 a 2015 (continua).

Nº	Roteiro	Grupo	Nº documento	Ano	Item	Legislação	Responsável	*Status* atual
1	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	BIOSSEGURANÇA	130	2013	AS INSTALAÇÕES E OS EQUIPAMENTOS UTILIZADOS NÃO SÃO CONDIZENTES COM O NÍVEL DE BIOSSEGURANÇA DOS DIVERSOS SETORES - CULTIVO DE MICOBACTÉRIAS: ESTUFAS PRÓPRIAS E CERTIFICADAS E CENTRÍFUGA COM CAÇAPAS DE SEGURANÇA.	LM 7031/96 ART 97 INC II c/c PF MTE 485/05 NR 32 ITEM 32.2.4.2 - DGTCMT - EQUIP. DE CONTENÇÃO E INST. LAB.	DIRETORIA	PENDENTE
2	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	BIOSSEGURANÇA	TERMO DE INTIMAÇÃO Nº 280714	2015	NÃO HÁ CONTROLE DO ACESSO ÀS ÁREAS RESTRITAS.	LM 7031/96 ART. 97 INC II C/C PF MTE 485/05 NR 32 ITEM 32.2.4.2 - DGTCMB-PROCEDIMENTOS-PADRÃO	DIRETORIA	PENDENTE
3	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	BIOSSEGURANÇA	TERMO DE INTIMAÇÃO Nº 280714	2015	A ÁREA FÍSICA NÃO É ADEQUADA AOS NÍVEIS DE BIOSSEGURANÇA DOS DIVERSOS SETORES.	LM 7031/96 ART. 97 INC II C/C PF MTE 485/05 NR 32 ITEM 32.2.4.2 - DGTCMB-INST.LAB.	DIRETORIA	PENDENTE
4	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	BIOSSEGURANÇA	TERMO DE INTIMAÇÃO Nº 280714	2015	NÃO HÁ DISPONIBILIDADE DAS SEGUINTES FICHAS DE INFORMAÇÃO DE SEGURANÇA DE PRODUTOS QUÍMICOS (FISPQ):	LM 7031/96 ART. 97 INC II C/C PF MTE 485/05 NR 32 ITENS 32.3.4.1.1 E 32.3.4.1.2	BIOQUIMICO	SANADO
5	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	BIOSSEGURANÇA	TERMO DE INTIMAÇÃO Nº 280714	2015	NÃO HÁ REGISTROS DE TREINAMENTO DO PESSOAL RELATIVO A UTILIZAÇÃO DAS FISPQ DE ALGUNS FUNCIONÁRIOS.	LM 7031/96 ART. 97 INC II C/C PF MTE 485/05 NR 32 ITENS 32.3.6.1 E 32.3.6.1.1	BIOQUIMICO	SANADO

Quadro 1: Planilha de Notificações da VISA – Laboratório Micologia HEM, 2013 a 2015 (continuação)

Nº	Roteiro	Grupo	Nº documento	Ano	Item	Legislação	Responsável	*Status* atual
6	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	BIOSSEGURANÇA	AUTO DE INFRAÇÃO Nº 283313	2015	ADVERTIDO POR NÃO DISPONIBILIZAR OS SEGUINTES EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO COLETIVA (EPC): CHUVEIRO DE SEGURANÇA, LAVA OLHOS, ASSIM COMO, OS REGISTROS DE FUNCIONAMENTO PERIÓDICO DOS MESMOS.	LM 7031/96 ART. 97 INC II C/C PF MTE 485/05 NR 32 ITEM 32.2.4.2 - DGTCMB-EQUIPAMENTOS DE CONTENÇÃO C/C PF MTE 485/05 NR 32 ITEM 32.3.7.1.3 ALÍNEA D	DIRETORIA	PENDENTE
7	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	BIOSSEGURANÇA	AUTO DE INFRAÇÃO Nº 283313	2015	ADVERTIDO POR NÃO TER APRESENTADO REGISTROS DE TROCA PERIÓDICA DOS FILTROS DO SISTEMA DE AR CONDICIONADO E NÃO POSSUIR CONDIÇÕES DE VENTILAÇÃO SATISFATÓRIAS.	LM 7031/96 ART. 97 INC II C/C PF MTE 485/05 NR 32 ITEM 32.9.6 C/C PM 017/99 INCISO I -ANEXO I-NTE 001/99 ART. 8º ALÍNEA III C/C RDC 63/11 ART. 38	DIRETORIA	PENDENTE
8	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	EQUIPAMENTOS/INSTRUMENTOS	130	2013	NÃO REALIZA E/OU NÃO REGISTRA MANUTENÇÕES PREVENTIVAS E CORRETIVAS DE TODOS OS EQUIPAMENTOS COM DATA DA ÚLTIMA E PREVISÃO DA PRÓXIMA.	LM 7031/96 ART 97 INC II C/C RDC 302/05 ART.1º - ANEXO - ITEM 5.4.1 ALÍNEA "C"	DIRETORIA	PENDENTE
9	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	EQUIPAMENTOS/INSTRUMENTOS	130	2013	OS CERTIFICADOS DE CALIBRAÇÃO DE EQUIPAMENTOS E INSTRUMENTOS NÃO ESTÃO DISPONÍVEIS.	LM 7031/96 ART 97 INC II C/C RDC 302/05 ART.1º - ANEXO - ITEM 5.4.1 ALÍNEA “D	DIRETORIA	PENDENTE
10	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	EQUIPAMENTOS/INSTRUMENTOS	130	2013	NÃO HÁ ANÁLISE CRÍTICA DOS CERTIFICADOS DE CALIBRAÇÃO PARA VERIFICAR SE O EQUIPAMENTO/INSTRUMENTO ATENDE AO PROCESSO ANALÍTICO.	LM 7031/96 ART 97 INC II c/c RDC 302/05 ART 1º ANEXO ITEM 5.4.1 ALÍNEA D	BIOQUIMICO	PENDENTE

Quadro 1: Planilha de Notificações da VISA – Laboratório Micologia HEM, 2013 a 2015 (continuação)

Nº	Roteiro	Grupo	Nº documento	Ano	Item	Legislação	Responsável	*Status* atual
11	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	EQUIPAMENTOS/INSTRUMENTOS	130	2013	EQUIPAMENTOS QUE NECESSITAM FUNCIONAR COM TEMPERATURA CONTROLADA (GELADEIRAS, BANHOS MARIA, ESTUFAS, EQUIPAMENTOS AUTOMATIZADOS, DENTRE OUTROS) NÃO SÃO EFETIVAMENTE MONITORADOS E NÃO HÁ REGISTROS DIÁRIOS DAS VERIFICAÇÕES, DE ACORDO COM COM A FAIXA DE VARIAÇAO	LM 7031/96 ART 97 INC II C/C RDC 302/05 ART.1º - ANEXO - ITEM 5.4.3	DIRETORIA	SANADO
12	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	EQUIPAMENTOS/INSTRUMENTOS	AUTO DE INFRAÇÃO Nº 283313	2015	ADVERTIDO POR NÃO QUALIFICAR A ESTUFA DE USO CRÍTICO.	LM 7031/96 ART. 97 INC II C/C RDC 302/05 ART. 1º - ANEXO - ITEM 5.1.4 E HABILITAÇÃO PARA LABORATÓRIOS DE MICROBIOLOGIA-ANVISA VOL 3 2006 SÉRIES TEMÁTICA	DIRETORIA	PENDENTE
13	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	GARANTIA DA QUALIDADE	AUTO DE INFRAÇÃO Nº 283313	2015	ADVERTIDO POR NÃO MONITORAR A TEMPERATURA AMBIENTE DE ACORDO COM OS PROCEDIMENTOS ESCRITOS DEFINIDOS PELO LABORATÓRIO NO PROCESSO ANALÍTICO DOS EXAMES MICOLÓGICOS.	LM 7031/96 ART. 97 INC II C/C RDC 302/05 ART. 1º - ANEXO ITEM 5.1.4	BIOQUIMICO	SANADO
14	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	GARANTIA DA QUALIDADE	130	2013	NÃO HÁ ANÁLISE CRÍTICA DOS REGISTROS EFETUADOS EM PLANILHAS E DEMAIS DOCUMENTOS UTILIZADOS PARA MONITORAMENT0, DE ACORDO COM A FAIXA DE VARIAÇÃO ACEITÁVEL DEFINIDA.	LM 7031/96 ART 97 INC II C/C RDC 302/05 ART.1º - ANEXO - ITEM 5.1.4 E 5.4.3	BIOQUIMICO	SANADO
15	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	GARANTIA DA QUALIDADE	130	2013	NÃO HÁ PROCEDIMENTOS ESCRITOS PARA O CIQ, DEFININDO A FORMA DE CONTROLE E A FREQUÊNCIA DE SUA UTILIZAÇÃO, PARA TODOS OS ANALITOS DOS DIVERSOS SETORES.	LM 7031/96 ART 97 INC II C/C RDC 302/05 ART.1º - ANEXO - ITEM 9.1 ALÍNEA "B"	BIOQUIMICO	SANADO

Quadro 1: Planilha de Notificações da VISA – Laboratório Micologia HEM, 2013 a 2015 (continuação)

Nº	Roteiro	Grupo	Nº documento	Ano	Item	Legislação	Responsável	*Status* atual
16	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	GARANTIA DA QUALIDADE	130	2013	NÃO HÁ REGISTROS DO MONITORAMENTO DO PROCESSO ANALÍTICO, POR MEIO DE AMOSTRAS CONTROLE, E ANÁLISE DOS DADOS PARA TODOS OS ANALITOS.	LM 7031/96 ART 97 INC II C/C RDC 302/05 ART.1º - ANEXO - ITEM 9.2.1 ALÍNEA "A"	BIOQUIMICO	SANADO
17	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	GARANTIA DA QUALIDADE	130	2013	NÃO SÃO REALIZADAS AUDITORIAS INTERNAS DE TODAS AS ATIVIDADES, PERIODICAMENTE, COM ANÁLISE CRÍTICA E OS SEUS DEVIDOS REGISTROS.	LM 7031/96 ART 97 INC II C/C RDC 302/05 ART.1º - ANEXO - ITEM 5.1.4	DIRAAS	PENDENTE
18	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	GARANTIA DA QUALIDADE	130	2013	OS PROCEDIMENTOS ESCRITOS NÃO SÃO: OPÇÕES NÃO ATENDIDAS: ATUALIZADOS DATADOS ASSINADOS	LM 7031/96 ART 97 INC II C/C RDC 302/05 ART. 1º ANEXO ITEM 5.1.4	BIOQUIMICO	SANADO
19	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	GARANTIA DA QUALIDADE	TERMO DE INTIMAÇÃO Nº 280714	2015	ALGUNS PROCEDIMENTOS ESCRITOS NÃO ESTÃO ATUALIZADOS.	LM 7031/96 ART. 97 INC II C/C RDC 302/05 ART. 1º ANEXO ITEM 5.1.4, 5.1.5 C/C RDC 63/11 ART. 51	BIOQUIMICO	SANADO
20	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	GARANTIA DA QUALIDADE	AUTO DE INFRAÇÃO Nº 283313	2015	ADVERTIDO POR NÃO TER APRESENTADO PROCEDIMENTOS ESCRITOS PARA O CIQ, DEFININDO A FORMA DE CONTROLE E A FREQUÊNCIA DE SUA UTILIZAÇÃO, PARA OS SEGUINTES EXAMES: TESTE RÁPIDO DE TROPONINA, TESTES MICOLÓGICOS, CORANTES DA MICOLOGIA E EQUIPAMENTO AUTOMATIZADO DE HEMOCULTURA. ADVERTIDO POR APRESENTAR PROCEDIMENTOS ESCRITOS DESATUALIZADOS PARA O CIQ DOS SEGUINTES EXAMES: TEMPO DE PROTROMBINA, TEMPO DE TROMBOPLASTINA, TESTE RÁPIDO DE SÍFILIS E TESTE RÁPIDO DE VDRL.	LM 7031/96 ART. 97 INC II C/C RDC 302/05 ART. 1º ANEXO ITEM 5.1.4, 5.1.5 C/C RDC 63/11 ART. 52	BIOQUIMICO	SANADO

Quadro 1: Planilha de Notificações da VISA – Laboratório Micologia HEM, 2013 a 2015 (continuação).

Nº	Roteiro	Grupo	Nº documento	Ano	Item	Legislação	Responsável	*Status* atual
21	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	INFRA-ESTRUTURA, ACOMODAÇÕES E CONDIÇÕES AMBIENTAIS	TERMO DE INTIMAÇÃO Nº 280714	2015	NÃO HÁ REGISTROS DO MONITORAMENTO E CONDIÇÕES AMBIENTAIS QUE POSSAM INFLUENCIAR ADVERSAMENTE O RESULTADO DOS ENSAIOS. SEM REGISTRO DA AÇÃO CORRETIVA NO CASO DE DESVIO DA TEMPERATURA AMBIENTE.	LM 7031/96 ART. 97 INC II C/C RDC 302/05 ART. 1º - ANEXO - ITEM 5.1.4 E HABILITAÇÃO PARA LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA/ANVISA 2006 ITEM 3.2.1	BIOQUIMICO	SANADO
22	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	INFRA-ESTRUTURA, ACOMODAÇÕES E CONDIÇÕES AMBIENTAIS	TERMO DE INTIMAÇÃO Nº 280714	2015	AS ÁREAS TÉCNICAS E DEMAIS SETORES DO LABORATÓRIO NÃO ESTÃO EM BOAS CONDIÇÕES DE ORGANIZAÇÃO.	LM 7031/96 ART. 29 E PF MTE 485/05 NR 32 ITEM 32.2.4.2 - DGTCMB-INST.LAB. NB1	BIOQUIMICO	SANADO
23	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	INFRA-ESTRUTURA, ACOMODAÇÕES E CONDIÇÕES AMBIENTAIS	TERMO DE INTIMAÇÃO Nº 280714	2015	PRESENÇA DE PAPÉIS AFIXADOS NAS PAREDES DAS ÁREAS TÉCNICAS IMPEDINDO A CORRETA LIMPEZA E DESINFECÇÃO DAS SUPERFÍCIES.	LM 7031/96 ART. 29, ART. 97 INC II	BIOQUIMICO	SANADO
24	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	INFRA-ESTRUTURA, ACOMODAÇÕES E CONDIÇÕES AMBIENTAIS	TERMO DE INTIMAÇÃO Nº 280714	2015	OS MOBILIÁRIOS, DOCUMENTOS E OUTROS ITENS NÃO SÃO O ESTRITAMENTE NECESSÁRIOS AOS ENSAIOS REALIZADOS NAS ÁREAS TÉCNICAS.	LM 7031/96 ART. 29, ART. 97 INC II	BIOQUIMICO	SANADO
25	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	INFRA-ESTRUTURA, ACOMODAÇÕES E CONDIÇÕES AMBIENTAIS	TERMO DE INTIMAÇÃO Nº 280714	2015	NÃO HÁ SEPARAÇÃO FÍSICA ADEQUADA ENTRE AS ÁREAS VIZINHAS ONDE SÃO REALIZADAS ATIVIDADES INCOMPATÍVEIS.	LM 7031/96 ART. 29, ART. 97 INC II	DIRETORIA	PENDENTE

Quadro 1: Planilha de Notificações da VISA – Laboratório Micologia HEM, 2013 a 2015 (continuação).

Nº	Roteiro	Grupo	Nº documento	Ano	Item	Legislação	Responsável	*Status* atual
26	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	INFRA-ESTRUTURA, ACOMODAÇÕES E CONDIÇÕES AMBIENTAIS	AUTO DE INFRAÇÃO Nº 283313	2015	ADVERTIDO POR NÃO MANTER AS PAREDES DO LABORATÓRIO COM ACABAMENTO RESISTENTE, DE FÁCIL LIMPEZA E EM BOM ESTADO DE CONSERVAÇÃO NOS SETORES TÉCNICOS.	LM 7031/96, ART. 69 C/C PM 024/99, ART.1, NTE 002/99, ANEXO IX, RVF Nº 009, ITEM 1	DIRETORIA	PENDENTE
27	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	INFRA-ESTRUTURA, ACOMODAÇÕES E CONDIÇÕES AMBIENTAIS	AUTO DE INFRAÇÃO Nº 283313	2015	ADVERTIDO POR NÃO DISPONIBILIZAR INSTALAÇÕES SANITÁRIAS ADEQUADAS PARA O ATENDIMENTO DE PORTADORES DE NECESSIDADES ESPECIAIS.	RDC 48/2000, ART. 1, ANEXO, ROTEIRO B, ITEM 25 CC PM 015/2001 NTE 001/01 ANEXO IV ITEM 3.28	DIRETORIA	PENDENTE
28	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	INFRA-ESTRUTURA, ACOMODAÇÕES E CONDIÇÕES AMBIENTAIS	AUTO DE INFRAÇÃO Nº 283313	2015	ADVERTIDO POR NÃO PROVIDENCIAR LAVATÓRIOS EXCLUSIVOS PARA HIGIENE DAS MÃOS COM TORNEIRAS OU COMANDOS QUE DISPENSEM O CONTATO MANUAL, SABONETE LÍQUIDO, TOALHA DESCARTÁVEL E LIXEIRAS COM SISTEMA DE ABERTURA SEM CONTATO MANUAL NAS ÁREAS TÉCNICAS.	RDC 48/2000, ART. 1, ANEXO, ROTEIRO B, ITEM 25 CC PM 015/2001 NTE 001/01 ANEXO IV ITEM 3.28	DIRETORIA	PENDENTE
29	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	INFRA-ESTRUTURA, ACOMODAÇÕES E CONDIÇÕES AMBIENTAIS	AUTO DE INFRAÇÃO Nº 283313	2015	ADVERTIDO POR NÃO PROVIDENCIAR BANCADAS, BALCÕES, MESAS, ARMÁRIOS E DEMAIS MOBILIÁRIOS DE MATERIAL LISO, IMPERMEÁVEL E DE FÁCIL LIMPEZA. ADVERTIDO POR MANTER MOBILIÁRIOS E BANCADAS DE MADEIRA EM VÁRIOS SETORES DA ÁREA TÉCNICA. ADVERTIDO POR MANTER PORTAS PIPETAS DE MADEIRA NOS SETORES DE SOROLOGIA E MICROBIOLOGIA.	LM 7031/96, ART. 69 C/C PM 024/99, ART.1, NTE 002/99, ANEXO IX, RVF Nº 009, ITEM 1	DIRETORIA	PENDENTE
30	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	INFRA-ESTRUTURA, ACOMODAÇÕES E CONDIÇÕES AMBIENTAIS	TERMO DE INTIMAÇÃO Nº 280714	2015	A ÁREA FÍSICA NÃO É SUFICIENTE PARA ATENDER À DEMANDA DO SERVIÇO.	LM 7031/96 ART. 97 INC II C/C PM 017/99 INCISO I ANEXO I-NTE 001/99 ART. 2º § 1º	DIRETORIA	PENDENTE

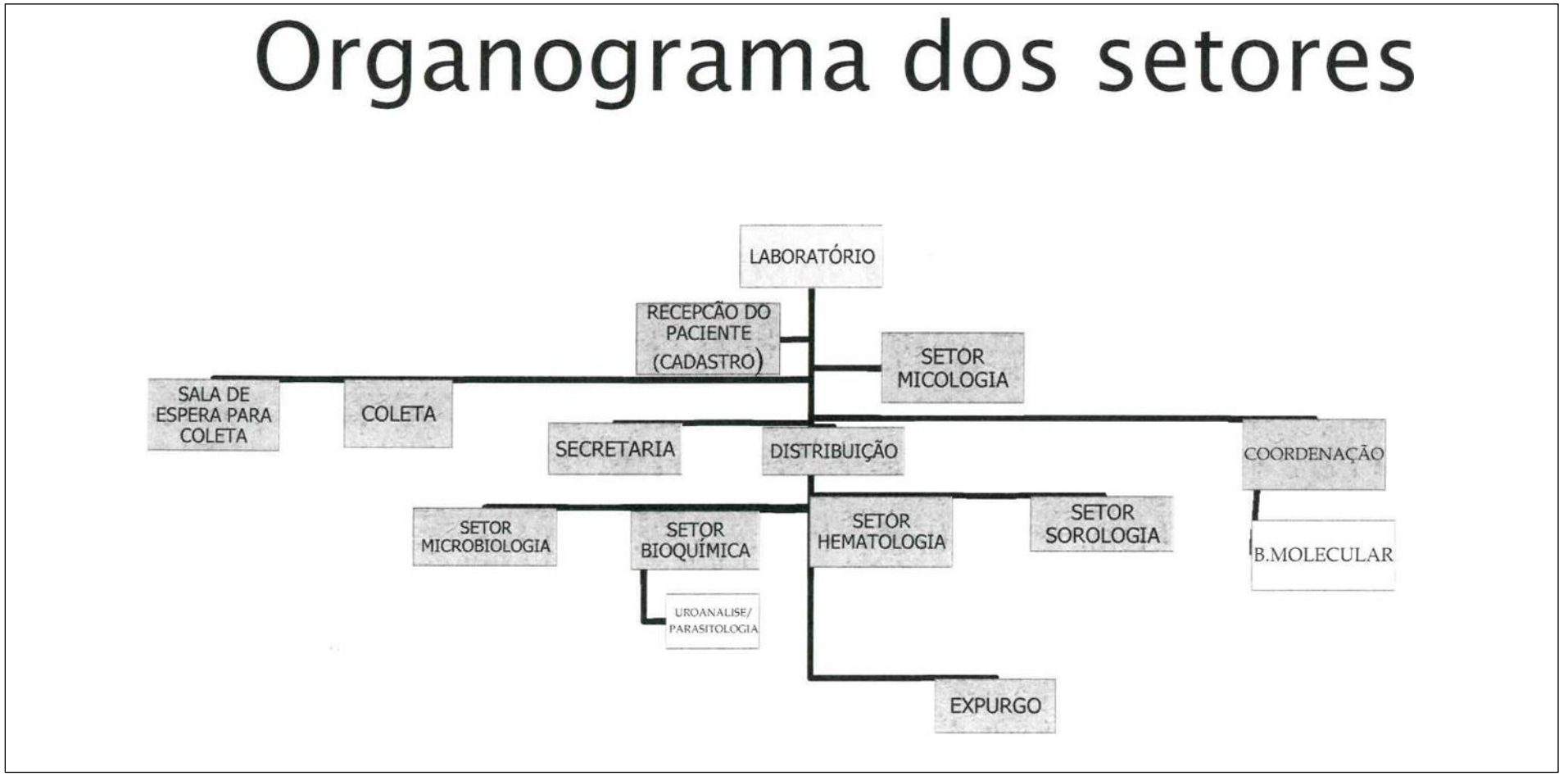
Quadro 1: Planilha de Notificações da VISA – Laboratório Micologia HEM, 2013 a 2015 (conclusão).

Nº	Roteiro	Grupo	Nº documento	Ano	Item	Legislação	Responsável	*Status* atual
35	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	RECEPÇÃO/COLETA/TRANSPORTE	AUTO DE INFRAÇÃO Nº 283313	2015	ADVERTIDO POR NÃO TER APRESENTADO REGISTROS QUE PERMITAM A RASTREABILIDADE DA HORA DO RECEBIMENTO E/OU COLETA DA AMOSTRA.	LM 7031/96 ART. 97 INC II C/C RDC 302/05 ART. 1º - ANEXO - ITEM 6.1.6	BIOQUIMICO	SANADO
36	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	RECURSOS HUMANOS	130/AUTO DE INFRAÇÃO Nº 283313	2015	NÃO HÁ REGISTROS DOS TREINAMENTOS DOS FUNCIONÁRIOS INFORMANDO DATA, HORÁRIO, CARGA HORÁRIA, CONTEÚDO MINISTRADO, NOME E FORMAÇÃO PROFISSIONAL DO INSTRUTOR E NOME DOS TRABALHADORES ENVOLVIDOS.	LM 7031/96 ART 97 INC II C/C PF MTE 485/05 NR 32 ITEM 32.2.4.9.2	BIOQUIMICO	SANADO
37	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	RECURSOS HUMANOS	130/ AUTO DE INFRAÇÃO Nº 283313	2015	NÃO HÁ REGISTROS DAS AVALIAÇÕES DA EFETIVIDADE DOS TREINAMENTOS.	LM 7031/96 ART 97 INC II C/C RDC 302/05 ART. 1º ANEXO ITEM 5.4.1 CAPUT	BIOQUIMICO	PENDENTE
38	ROTEIRO DE VISTORIA PARA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	RECURSOS HUMANOS	AUTO DE INFRAÇÃO Nº 283313	2015	ADVERTIDO POR NÃO PROVIDENCIAR PESSOAL EM QUANTIDADE SUFICIENTE PARA ATENDER À DEMANDA DOS SERVIÇOS E POR NÃO REALIZAR SUPERVISÃO DO PESSOAL TÉCNICO POR PROFISSIONAL DE NÍVEL SUPERIOR, LEGALMENTE HABILITADO, NO HORÁRIO NOTURNO E NOS FINAIS DE SEMANA.	LM 7031/96 ART. 97 INC II C/C RDC 302/05 ART. 1º ANEXO ITEM 5.1.4 ALÍNEAS "A" E "C"	DIRETORIA	SANADO

ANEXO 03: MODELO DE PLANILHA DE COLETA DE DADOS LABORATORIAIS

N	ANO	PRONT	INCI	SEX	DT_EXA	AMOST_1	GRAI	EMD	PES_PC	PES_ZIEH	CUL_FUN	TINTA_C	HEMOC	BK.FUNG	BK_LJ
1	2014	124951	JRSJ	M	14/11/2014	LIQUIDOS CO	NEG	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA
2	2014	120905	JMA	M	17/11/2014	LIQUIDOS CO	NEG	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA
3	2014	124290	FTO	M	18/11/2014	LIQUIDOS CO	NEG	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA
4	2014	111101	OJS	M	18/11/2014	LIQUIDOS CO	NEG	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA
5	2014	124358	RASS	M	19/11/2014	LIQUIDOS CO	NS	NA	NS	NEG	CONTAMINAÇÃ	NS	NA	NS	NS
6	2014	88067	MFPS	F	20/11/2014	LIQUIDOS CO	NEG	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA
7	2014	36429	LMSS	F	20/11/2014	LIQUIDOS CO	NEG	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA
8	2014	125011	GGR	F	20/11/2014	LIQUIDOS CO	NEG	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA
9	2014	NA	GLS	NA	20/11/2014	LIQUIDOS CO	NEG	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA
10	2014	115331	RGS	M	21/11/2014	LIQUIDOS CO	NEG	NA	NS	NEG	CRYPTOCOCCU	CRYPTOCO	NA	NEG	NA
11	2014	124960	JTS	F	25/11/2014	LIQUIDOS CO	NEG	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA
12	2014	124952	MCM	F	25/11/2014	LIQUIDOS CO	NS	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA
13	2014	120905	JMA	M	26/11/2014	LIQUIDOS CO	NEG	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA
14	2014	124746	MAMJ	M	28/11/2014	LIQUIDOS CO	NEG	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA
15	2014	124966	VAO	M	28/11/2014	LIQUIDOS CO	NEG	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA
16	2014	125037	JAS	M	28/11/2014	LIQUIDOS CO	NEG	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA
17	2014	59063	NMF	F	03/11/2014	LIQUIDOS CO	NEG	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA
18	2014	105398	FMEF	F	03/11/2014	LIQUIDOS CO	NEG	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA
19	2014	115331	RGS	M	06/11/2014	LIQUIDOS CO	NS	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA
20	2014	120232	RMF	M	06/12/2014	LIQUIDOS CO	NEG	NA	NS	NEG	NEG	NS	NA	NEG	NA
21	2014	122324	JSB	M	07/12/2014	LIQUIDOS CO	NEG	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA
22	2014	125204	KCRSS	F	07/12/2014	LIQUIDOS C	NEG	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA
23	2014	119294	JPS	F	09/12/2014	LIQUIDOS C	NEG	NA	NS	NEG	NEG	NEG	NA	NEG	NA

ANEXO 04: ORGANOGRAMA DOS SETORES LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS HEM, 2020.



ANEXO 05: PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO DO LABORATÓRIO DE MICOLOGIA DO HEM.

D. POP-CD-001: LABORATÓRIO DE APOIO E SETOR DE DISTRIBUIÇÃO.

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-CD-001 Versão 03
LABORATORIO DE APOIO E SETOR DE DISTRIBUIÇÃO	Setor: Distribuição Folha 1 de 32

SUMÁRIO

1.	Sinonímia e Símbolos	03
2.	Indicação médica	04
3.	Princípio e Método	04
3.1	Princípio	04
3.2	Método	04
4.	Amostra	04
4.1	Tipo de Amostras	04
4.2	Preparo do paciente	05
4.3	Coleta e armazenamento	05
4.4	Estabilidade	05
4.5	Critérios de rejeição	05
5.	Responsabilidades	05
6.	Materiais e Reagentes	05
7.	Equipamentos	05
8.	Procedimentos	06
8.1	Recebimento de amostras biológicas de coleta ambulatorial e setores internos do hospital	06
8.2	Centrifugação de amostras biológicas	06
8.3	Recebimento de Amostras	06
8.3.1	**Amostras colhidas pelo laboratório:**	07
8.3.2	**Amostras colhidas pelos setores do HEM:**	
8.4	Gerar Mapa de trabalho	07
8.5	Distribuição de amostras biológicas aos setores técnicos	07
8.6	Preparo de amostras biológicas para enviar aos laboratórios de apoio	08
8.6.1	Fundação Ezequiel Dias (FUNED)	08
8.6.2	Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (HEMOMINAS)	10

Revisado por: Juliana Carvalho Martins	Verificado por: Vanessa Caroline Randi	Aprovado por: Tayrine Araujo Santos	Versão 03
Data: 23/04/2020	Data:23/04/2020	Data: 23/04/2020	

8.6.3	Centro de Genomas	10
8.6.4	8.7.4Hospital Júlia Kubitscheck	11
8.6.5	Centro de Pesquisas Renê Rachou	11
8.6.6	Hospital João XXIII	11
8.6.7	Laboratório São Marcos	11
8.6.8	Laboratório Maternidade Odete Valadares (MOV)	12
8.6.9	Hospital das Clínicas	12
8.7	Recebimento de Amostras das unidades da Rede FHEMIG ao LAC-HEM	12
8.8.1	**Passo a passo para Expedição e Recebimento de amostras da Rede FHEMIG.**	**13**
8.8.2	**Passo a passo para expedição de mapas de trabalho para unidades da Rede Fhemig.**	**13**
8.8.3	**Passo a passo para recebimento de mapas de trabalho de outras unidades da Rede Fhemig no LAC-HEM.**	**16**
9.	Resultados	17
9.1	Valores de Referência	17
9.2	Cálculos	18
9.3	Interpretação Clínica	18
9.4	Valores Críticos	18
10.	Registros	18
11.	Controle de Qualidade	18
12.	Notas adicionais	19
13.	Referências Bibliográficas	32

CONTROLE HISTÓRICO

REVISÃO	DATA	Nº PÁGINAS	HISTÓRICO ALTERAÇÃO	ELABORAÇÃO	VERIFICAÇÃO	APROVAÇÃO
00	10/10/17	25	Emissão inicial	Érika F. Resende	Tayrine Araújo	Tayrine Araújo
01	03/05/18	26	Transporte	Tânia O. Batista	Tayrine Araújo	Tayrine Araújo
02	25/07/19	23	Tabela Funed; exames e Jejum de exames.	Juliana Carvalho	Vanessa Caroline Randi Magalhães	Pollyana Rodrigues
03	23/04/20	27	Recebimento e Expedição de Amostras biológicas Rede Fhemig Acréscimo de exames na listagem	Juliana Carvalho Martins	Vanessa Caroline Randi Magalhães	Tayrine Araujo Santos

1. Sinonímia e Símbolos

CNS: Cartão Nacional do SUS

CTI: Centro de Tratamento Intensivo

EDTA: Etilenodiaminotetracético

FHEMIG: Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais

FUNED: Fundação Ezequiel Dias

GAL: Gerenciador de Ambiente Laboratorial

LAC-HEM: Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Eduardo de Menezes

HC: Hospital das Clínicas

HEM: Hospital Eduardo de Menezes

HEMOMINAS: Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais

HJK: Hospital Júlia Kubsticheck

HXXIII: Hospital João XXIII

INFOLAB: Informatização Laboratorial

MOV: Maternidade Odete Valadares

POP: Procedimento Operacional Padrão

SIGH: Sistema de Gestão Hospitalar

LTA :Leishimaniose Tegumentar

LV : Leishimaniose Visceral

2. Indicação Médica

Este POP tem por objetivo descrever a atividades destinadas ao setor de distribuição e as atividades relacionadas ao envio de amostras aos laboratório de apoio.

3. Princípio e Método

3.1 Princípio

Recebimento de amostras do Hospital Eduardo de Menezes (HEM) e laboratórios da rede FHEMIG, bem como distribuição das amostras aos setores técnicos do laboratório do HEM e de apoio.

3.2 Método

Não se aplica.

4. Amostra

4.1 Tipo de Amostra

Escarro, Fezes, Liquor, Urina, Sangue, Aspirado de Medula, BAL, Líquidos corporais diversos (Pleural, Ascítico, sinovial, etc.), Biópsias, Swab (nasofaringe e orofaringe).

4.2 Preparo do Paciente

Não se aplica.

4.3 Coleta e armazenamento

Conforme manuais dos Laboratórios de Apoio.

4.4 Estabilidade

Não se aplica.

4.5 Critérios de Rejeição

Não se aplica.

5. Responsabilidades

- ✔ Responsável pelo setor de distribuição, Técnicos de Patologia Clínica, Bioquímicos.

6. Materiais e Reagentes

- ✔ Amostras biológicas;
- ✔ Tubos de transporte de amostras.

7. Equipamentos

- ✔ Centrífuga
- ✔ Computador
- ✔ Impressora
- ✔ Etiquetadora

8. Procedimentos

8.1 Recebimento de amostras biológicas de coleta ambulatorial e setores internos do hospital

As amostras entregues pelos setores do hospital ao Laboratório de Análises Clínicas do HEM, como o Centro de Tratamento Intensivo (CTI), alas A, B e C, Hospital Dia e Ambulatório deverão estar acondicionadas corretamente, identificadas com o nome completo do paciente, o horário da coleta, a data, o tipo de material e o responsável pela coleta.

8.2 Centrifugação de amostras biológicas

As amostras de sangue colhidas pelo Laboratório como os tubos de citrato, fluoreto, soro e plasma deverão ser centrifugados, conforme as especificações de cada exame solicitado, antes de serem encaminhados para os respectivos setores ou laboratórios de apoio. Deverão ser seguidas as instruções de acordo com seus respectivos manuais de coleta ou procedimentos operacionais padrões (POP).

8.3 Recebimento de Amostras

8.3.1 Amostras colhidas pelo laboratório:

As amostras deverão ser registradas no Sistema INFOLAB:

- ✔ Acessar o Sistema INFOLAB ✳ Clicar em Módulo ✳Coleta ✳Registro de Colhedor;
- ✔ Inserir usuário e senha → Com o leitor, realizar a leitura do código de barras da etiqueta. É possível também dar registro de colhedor digitando a sequência numérica.

Obs.: Em casos de dar registro de colhedor manual clicar em "Módulo" ✳ "Recepção" ✳ "Atendimento Saúde Humana" e abrir o cadastro do paciente. Clicar em itens, selecionar o exame clicar em Editar e alterar "Vai Colher" para "Normal", e ao final 'Salvar".

8.3.2 Amostras colhidas pelos setores do HEM:

As amostras deverão ser tiradas as etiquetas e registradas no Sistema INFOLAB:

- ✔ Acessar o Sistema INFOLAB ✳ Clicar em Atendimento ✳ Lupa ✳ Identificação Externa (n° pedido médico) ✳Conferir dados se estiverem corretos clicar em impressora ✳ e imprimir as etiquetas .
- ✔ Acessar o Sistema INFOLAB ✳ Clicar em Módulo ✳Coleta ✳Registro de Colhedor;
- ✔ Inserir usuário e senha → Com o leitor, realizar a leitura do código de barras da etiqueta. É possível também dar registro de colhedor digitando a sequência numérica.

8.4 Gerar Mapa de trabalho

Após dar o registro de colhedor, recebimento de amostras, gerar o mapa de trabalho dos exames do setores de bioquímica, urinálise e parasitologia que pode ser realizado de duas formas:

- ✔ No sistema INFOLAB clicar em "Módulos" ✳"Planejamento e controle da produção" ✳"Impressão de mapas" ✳Selecionar o mapa e clicar em "Imprimir Selecionados".
- ✔ Ou na página principal do Infolab clicar em "Produção" selecionar o mapa e clicar em "Imprimir Selecionados".

8.5 Distribuição de amostras biológicas aos setores técnicos

As amostras deverão ser separadas e entregues de acordo com os exames processados nos setores técnicos ou organizadas para o encaminhamento aos laboratórios de apoio, conforme Lista de Exames Realizados na pasta de Fluxograma da Secretaria ou POP da Coleta.

Os exames do setor de bioquímica deverão ser entregues com os respectivos mapas de trabalho. Para o setor de sorologia, para os exames de VDRL, Sífilis , Chagas , as amostras deverão ser aliquotadas. Para os exames encaminhados ao laboratório de apoio, as amostras deverão ser armazenadas congeladas, refrigeradas ou mantidas à temperatura ambiente até o momento do envio de acordo com as instruções especificadas pelos respectivos laboratórios de apoio.

8.6 Preparo de amostras biológicas para enviar aos laboratórios de Apoio

8.6.1 Fundação Ezequiel Dias (FUNED)

Conferir as notificações, quando necessário, dos exames que serão encaminhados, os pedidos médicos e as respectivas amostras que deverão ser cadastradas no Gal Funed.

- Para o exame CD4/CD8, as amostras deverão ser relacionadas de acordo com a lista originada no Sistema INFOLAB (ordem alfabética), conforme POP Sistema INFOLAB Secretaria.
- Para os exames de PCR de Hepatite B (HBVDNA), Hepatite C (HCVRNA) o plasma de EDTA deverá ser aliquotado em criotubos previamente identificados. Essas amostras deverão ser transportadas refrigeradas e encaminhadas com fichas padrões. Os outros exames encaminhados estão relacionados na tabela em anexo.
- Cultura para Leishmaniose Visceral (1 tubos de meio de cultura MNN meio vermelho), conservado à temperatura ambiente.
- Pesquisa de PCR de Leishmania Visceral (01 tubo de EDTA e um soro- pode ser o da bioquímica), as condições de armazenamento são refrigerados.
- As pesquisas de Resistência de Hanseníase (01 ependorff com biópsia e álcool 70%) deverão ser encaminhadas para FUNED, mas cadastradas no FORMSUS no (link:http://formsus.datasus.gov.br/site/formulario.php?id_aplicacao=49612) . E encaminhadas em formulário manual da FUNED. Após cadastro no FORMSUS o número de protocolo deverá ser escrito no formulário da FUNED e nosso caderno de protocolo. A biópsia virá colhida em um ependorff com álcool 70%, que deverá ser armazenado e transportado à temperatura ambiente.
- Isolados fúngicos e de micobactérias também serão encaminhadas para identificação e teste de sensibilidade. As amostras serão encaminhadas com formulário preenchido manualmente e cadastrados no GAL.

- As amostras deverão ir armazenadas nas caixas brancas de transportes à temperatura ambiente.
- Exame para diagnóstico de COVID 19 deverá ser colhido um Kit com 2 Swab (naso- orofaringe) armazenando e enviando de forma refrigerada. Para pacientes entubados devera ser colhido Aspirado Traqueal e enviar a amostra no meio de transporte aproximadamente 3 ml, ou colher aspirado Nasofaringe enviar amostra no meio de transporte 3ml aproximadamente, envio refrigerada. Deverá ser cadastrada como síndrome respiratória grave associada ao Coronavírus (SARS – COV). Os exames realizados pela FUNED estão disponibilizados no Manual de Coleta, na página http://www.funed.mg.gov.br/wp-content/uploads/2018/01/MANUAL-DE-COLETA-DE-AMOSTRAS-BIOL%C3%93GICAS-16jan18-job.pdf

8.6.2 Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (HEMOMINAS)

Envio de EDTA para realizar o exame PCR para HTLV e também envio de Liquor para realizar exame PCR para HTLV encaminhar amostras para HEMOMINAS em maletas com refrigeração de 2 a 8ºC.

8.6.3 Centro de Genomas

Encaminhar amostras para exame de Genotipagem de HCV e HIV juntamente com os protocolos devidamente preenchidos no dia estabelecido. Caso contrário, o HCV e o HIV deverão serem armazenados no freezer até dia de envio. A estabilidade do HIV é de 7 dias e o HCV é por tempo indeterminado.

OBS: Todas as amostras deverão ser protocoladas em caderno especifico da secretaria, conforme POP Sistema INFOLAB Secretaria.

8.6.4 Hospital Júlia Kubitscheck

Encaminhar amostras de liquor, escarro, aspirado traqueal, lavado bronco alveolar e biopsias descontaminas para realizar o Teste Molecular para Tuberculose . As amostras deverão ser encaminhadas refrigeradas.

OBS: Todas as amostras deverão ser protocoladas em caderno especifico da secretaria, POP Sistema INFOLAB Secretaria e cadastradas no Gal Funed.

8.6.5 Centro de Pesquisas Renê Rachou

Encaminhar as amostras Sorologia de Esquistossomose (soro), PCR Leishmaniose Tegumentar (ependorf com a biósia seca congelada) e Cultura para Leishmaniose Tegumentar (3 tubos de meio de cultura à vácuo, MNN meio vermelho à temperatura ambiente), respectivamente. As amostras deverão ser cadastradas no GAL FIOCRUZ conforme descrito nos procedimentos: POP Sistema INFOLAB Secretaria.

8.6.6 Hospital João XXIII

As amostras deverão ser encaminhadas refrigeradas juntamente com o pedido médico e com o mapa de trabalho.

8.6.7 Laboratório São Marcos

Cadastrar os pacientes no site do laboratório São Marcos, conforme POP Sistema INFOLAB Secretaria.

Gerar as etiquetas e identificar as amostras. Os exames estão relacionados no anexo 3 deste POP.

8.6.8 Laboratório Maternidade Odete Valadares (MOV)

Serão encaminhadas as amostras para realizar os exames de Coombs Direto (EDTA) e Indireto (Soro). As amostras deverão ser encaminhadas refrigeradas, junto com o mapa de trabalho.

8.6.9 Hospital das Clínicas

Encaminhar amostras de EDTA para pesquisa de *Plasmodium sp.* Em caso de solicitação de gota espessa deverá comunicar ao HC, no Telefone: 3226-6269, sobre a realização do exame e enviar a amostra juntamente com a notificação de malária. O técnico aguardará o resultado do exame e trará para o HEM o medicamento, se necessário.

8.7 Laboratório HLAGYN

Encaminhar as amostras HLAB*5701 em tubos de EDTA sem gel para o laboratório HLAGYN através da empresa Biologística, que recolhera estas amostras em até 3 dias úteis após ser comunicado pelo Hospital Eduardo de Menezes da coleta da mesma através de e-mail.

O encaminhamento deverá ser feito juntamente com o protocolo de envio preenchidos em 3 vias, as amostras devem ser armazenadas de forma correta.

OBS: Todas as amostras deverão ser protocoladas em caderno especifico da secretaria, conforme POP Sistema INFOLAB Secretaria.

8.0 Recebimento de Amostras das unidades da Rede FHEMIG ao LAC-HEM

As amostras serão enviadas ao laboratório do HEM pelo motorista de empresa terceirizada Biologística. As amostras deverão estar armazenadas, acondicionadas e refrigeradas ou não, de acordo com a instrução para cada exame, conforme POP Transporte e Recebimento de amostras. As amostras deverão estar corretamente identificadas, com o pedido médico e mapa controle e informação de segurança para transporte de material biológico humano, conforme POP Transporte e Recebimento de amostras.

No pedido médico deve conter o nome do paciente, data de nascimento, numero de identidade, cartão nacional do SUS (CNS), endereço com CEP caso seja solicitado o exame de HCV, assinatura e carimbo do médico, conforme POP Sistema INFOLAB Secretaria.

8.8.1 Passo a passo para Expedição e Recebimento de amostras da Rede FHEMIG.

8.8.2 Passo a passo para expedição de mapas de trabalho para unidades da Rede Fhemig.

Sistema INFOLAB >Módulos > Produção > Expedição e recebimento de amostras> Clicar no Novo(livro) >Selecionar unidade de origem da amostra> Colocar destino amostra >Salvar V >Bipar amostras > Clicar em expedir > Vai ficar verde > Imprimir 2 Vias do mapa , Enviar 1 e arquivar outra.

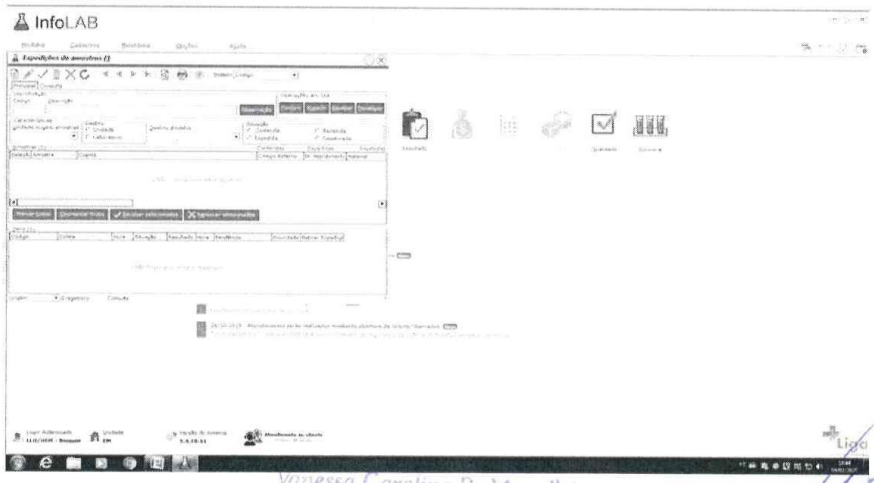
FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-CD-001
	Versão 03
LABORATORIO DE APOIO E SETOR DE DISTRIBUIÇÃO	Setor: Distribuição
	Folha 14 de 32

EXPEDIÇÃO DE AMOSTRAS PARA ENVIAR PARA OUTRA UNIDADE

1-Clicar em produção expedição e recebimento de amostra



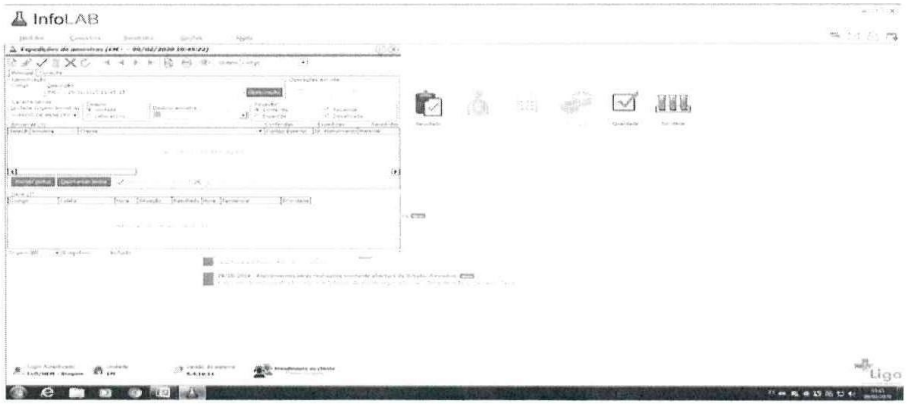
2-Clica em (NOVO)



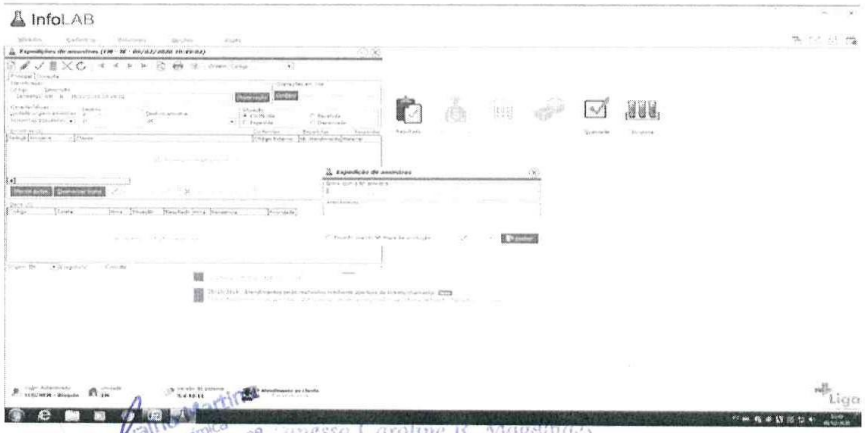
Vanessa Caroline R. Magalhães
Farmacêutica-Bioquímica
CRF-MG 19669

Revisado por: Juliana Carvalho Martins	Verificado por: Vanessa Caroline Randi	Aprovado por: Tayrine Araujo Santos	Versão 03
Data: 23/04/2020	Data:23/04/2020	Data: 23/04/2020	

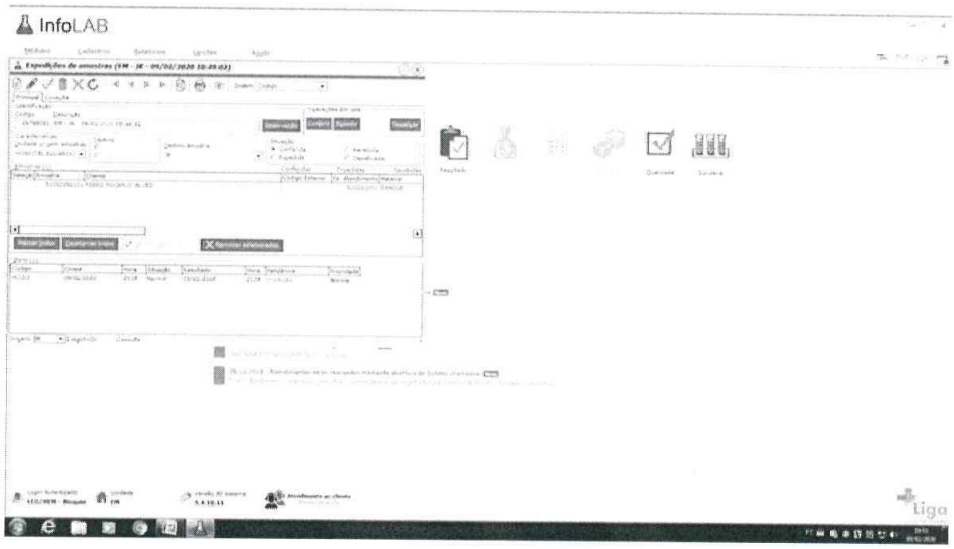
3-Seleciona unidade de origem sempre no nosso caso será (EM EDUARDO DE MENEZES) e destino da amostra (EX:JK HJK esse campo será destinado a qual unidade será enviado as amostras).



4-Clicar no(V) para salvar e abrirá o campo para bípar as amostras.



5-Bipar as amostras clicar em fechar e depois (EXPEDIR)



6-Após expedir as amostras clicar no ícone que tem uma impressora e imprimir duas cópias do mapa de expedição um deverá ser enviado com as amostras e o outro deverá ficar na pasta de controle de material enviado.

8.8.3 Passo a passo para recebimento de mapas de trabalho de outras unidades da Rede Fhemig no LAC-HEM.

Acessar sistema INFOLAB > Módulos > Expedição e recebimento de amostras > Clicar na lupa > Bipar o Mapa > Clicar ok > Marcar todos > Clicar em receber

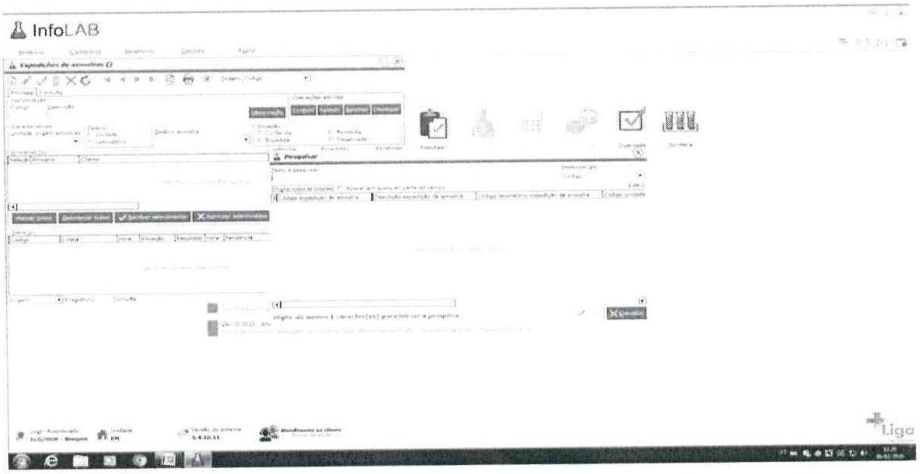
Recebimento de amostras de outras unidades

1-Clicar em produção expedição e recebimento de amostras

2-Clicar na lupa

3-Bipar ou digitar o numero do mapa

4-Marcar todos e clicar em (RECEBER)



5-Esse exemplo e para amostras recebidas de outra unidade ela irá vim com o mapa e tem que ser realizado esse processo para que a amostra saia do modulo transporte e permita a liberação do resultado pela nossa unidade

Após a conferência das amostras, encaminhá-las aos respectivos setores.

No caso de recebimento de amostra com restrição, analisar a amostra se existe possibilidade de recebê-la ou não. Se não houver condições de processá-la nos setores encaminhar o pedido de recoleta para unidade de origem que foi feito o envio.

9. Resultados

Não se aplica.

9.1 Valores de Referência

Não se aplica.

9.2 Cálculos

Não se aplica.

9.3 Interpretação Clínica

Não se aplica.

9.4 Valores Críticos

Não se aplica

10. Registros

A transportadora contratada Biologística deverá entregar na distribuição do laboratório um comprovante de coleta/entrega em 3 vias (Branca, verde e amarela) onde deverá constar:

·Remetente;

·Destinatário;

·Quantidade e tipo de embalagem;

·Descrição do conteúdo;

·Número do lacre;

·Checklist (itens que deverão ser verificados) para coleta e assinaturas;

·Checklist(itens que deverão ser verificados) para entrega e assinaturas;

·Temperatura em °C de recebimento.

11. Controle de Qualidade

Será realizado auditoria anualmente para avaliar as atividades desenvolvidas no setor de distribuição.

12.Notas adicionais

ANEXO 1. TABELA 1. Relação de exames que são encaminhados ao laboratório de apoio HJXXIII, com descrição de volume, tipo de amostra e temperatura de armazenamento.

Exames Terceirizados – HJXXIII				
Exame	**Amostra**	**Volume (mL)**	**Armazenamento (°C)**	**Jejum**
Dímero D	Plasma citratado	5,0 mL	2 e 8ºC	Não Obrigatório
Dosagem de Fenobarbital	Soro	5,0 mL	2 e 8ºC	Jejum 4 horas
Dosagem de Carbamazepina	Soro	5,0 mL	2 e 8ºC	Jejum 4 horas
Dosagem de Vancomicina	Soro	5,0 mL	2 e 8ºC Deve ser colhida de manhã após a administração da ultima dose do antibiótico	Jejum 4 horas
Hemoglobina Glicosilada (HA1C)	Sangue total com EDTA	3,0 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
Dosagem de ácido valpróico	Soro	5,0 mL	2 e 8ºC	Jejum 4 horas
Dosagem de Fenitoína	Soro	5,0 mL	2 e 8ºC	Jejum 4 horas
Fibrinogênio	Plasma Citratado	+ou – 2 mL	Se encaminhada no dia da coleta, 2 a 8 °C, se dia seguinte congelado	Jejum 4 horas
Ferro	Soro	5,0 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas
Índice de Saturação de Transferrina	Soro	5,0 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas

Índice de Captação Total de Ferro	Soro	5,0 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas
Metahemoglobina	Sangue total com EDTA	5,0 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
Troponina Quantitativa	Soro	5,0 mL	2 e 8ºC. Enviar imediatamente a troponina quantitativa positiva.	Jejum não obrigatório

ANEXO 2. TABELA 2. Relação de exames que são encaminhados ao laboratório de apoio Renê Rachou, com descrição de volume, tipo de amostra e temperatura de armazenamento.

Exames Terceirizados – Rene Rachou				
Exame	**Amostra**	**Volume (mL)**	**Armazenamento (°C)**	**Jejum**
Esquistossomose	Soro	5,0 mL	2 e 8ºC	
Pesquisa de Leishmânia Tegumentar- LTA	Lâmina	-	Temperatura ambiente	
Cultura Leishmânia Tegumentar ou	Soro	5,0 mL	2 e 8ºC	
Leishmânia Tegumentar PCR	Soro	5 mL	2 e 8ºC	

ANEXO 3. TABELA 3. Relação de exames que são encaminhados ao laboratório de apoio São Marcos, com descrição de volume, tipo de amostra e temperatura de armazenamento.

Exames Terceirizados – São Marcos				
Exame	**Amostra**	**Volume (mL)**	**Armazenamento (°C)**	**Jejum**
ACTH	Plasma de EDTA	2,0 ml	Congelado	Jejum 4 horas
ADA	**Líquor**	**1,0ml**	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
ADA	**Soro**	**1,0ml**	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
ALDOSTERONA P	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas
ALFA 1 ANTI-TRIPSINA	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
ALFA 1 GLICOPROTEINA	**Soro**	**1,0 ml**	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
ALFA FETOPROTEÍNA	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
FANCM(ANEMIA DE FANCONI)	**Edta**	**4,0ml**	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
ANTI-CARDIOLIPINA IGM	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
ANTI-CARDIOLIPINA IGG	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
ANTI-MICROSSOMAL (ANTI TPO)	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
ANTI-SSA/RO	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas
ANTI-SSB/LA	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	
ANTICOAGULANTE LÚPICO (ANTICORPOS ANTIFOSFOLÍPEDES)	Plasma Citratado	3,0 ml	Congelado	Jejum 8 horas
ANTICORPOS ANTI DNA	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
ANTICORPOS ANTI-EPSTEIN BARR IGG	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas

ANTICORPOS ANTI-EPSTEIN BARR IGM	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas
ANTICORPO ANTI HISTOPLASMA CAPSULATUM	soro	1 ml	2 e 8ºC	
ANTICORPOS ANTI-LKM	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas
ANTICORPOS ANTI-MITOCÔNDRIA (AMA)	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas
ANTICORPOS ANTI-MÚSCULO LISO (ASMA)	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
ANTICORPOS ANTI-NEUTRÓFILOS (C-ANCA)	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas
ANTICORPOS ANTI-NEUTRÓFILOS (P-ANCA)	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas
ANTICORPOS ANTI-PARVOVÍRUS B 19 IGG/IGM	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum 4 horas
ANTICORPOS ANTI-SM	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas
ANTITROMBINA III ATIVIDADE	Plasma Citratado	2 mL	Congelado	Jejum 4 horas
ADENOSINA DEAMINASE (ADA)	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
CA 19/9	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas
CATECOLAMINAS-EPINEFRINA E NOREPINEFRINA	Plasma Heparinizado	5,0 ml	Congelado	Jejum 4 horas
CERULOPLASMINA	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas
CITOMEGALOVIRUS (PCR - QUALITATIVO)	LIQUOR	4 ML	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório

CITOMEGALOVIRUS (PCR – QUALITATIVO) URINA	**Frasco**	**10,0 ml**	**Congelado**	Jejum não obrigatório
COBRE URINÁRIO RECENTE/24 h	01 Frasco	50 mL	2 e 8ºC	
COBRE ERITROCITOS	**Frasco**	**10,0 ml**	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
COBRE SÉRICO	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum aconselhável de 4 horas
COBRE URINÁRIO INÍCIO DE JORNADA	**Frasco**	**10,0ml**	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
COMPLEMENTO C3	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
COMPLEMENTO C4	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
COMPLEMENTO CH 100 (COMPLEMENTO SÉRICO TOTAL)	Soro	3 a 4 mL	Congelado	Jejum não obrigatório
CORTISOL BASAL	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
CORTISOL PÓS ESTÍMULO COM ACTH (CORTROSINA)	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório

CRIOGLOBULINAS	Soro	02 Tubos	Pré-aquecer o tubo a 37º por 15 min. Deixar o tubo em banho-maria 37º por 30 min para coagulação, centrifugar e enviar ambiente.	Jejum 8 horas
DOSAGEM DE IGG NO LIQUOR	Líquor	01 Frasco	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
ELETROFORESE PROT. URINA 24 HORAS	Frasco	20,0 ml	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
ELETROFORESE DE HEMOGLOBINAS	Plasma de EDTA	2 mL	2 e 8ºC	Jejum 4 horas
ENZIMA CONVERSORA DA ANGIOTENSINA (ECA)	Soro	3 a 4 mL	2 e 8º	Jejum não obrigatório
ELETROFORESE PROTEÍNAS LÍQUOR	Líquor	3 a 4 mL	2 e 8ºC	
ELETROFORESE DE PROTEÍNAS DO SORO	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas
ELETROFORESE DE PROTEÍNAS URINÁRIAS	Urina	10 mL	2 e 8ºC	
FTA-ABS NO LÍQUOR	Líquor	3,2 ML	2 e 8ºC	
FTA-ABS IGM	**Líquor**	3,2 ml	2 e 8ºC	Jejum 8 horas
FTA – ABS IGG	**Soro**	2,0 ml	2 e 8ºC	Jejum 8 horas
FTA- ABS IGM	**Soro**		2 e 8ºC	Jejum 8 horas
FATOR ANTI-	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas

NUCLEAR (FAN)				
FATOR V DE LEIDEN	EDTA	4 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
SPJM(GEN.POLIPOSE INFANTIL)	**EDTA**	4,0ml	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
GEN.SÍNDROME DE MARFAN	**EDTA**	4,0 ML	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
HERPES VÍRUS SIMPLES PCR GENOTIPAGEM	**Edta**	4,0ml	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
HERPES VÍRUS SIMPLES PCR GENOTIPAGEM IGG	**Líquor**	3,2 ml	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
HERPES VÍRUS SIMPLES (HSV)	SORO	4 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
HLA-B 27 PCR	**Edta**	**4,0 ml**	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
HOMOCISTEÍNA	Plasma de EDTA	2 mL	2 e 8ºC	Jejum 4 horas
IGE TOTAL	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
IMUNOGLOBULINAS IGG, IGA, IGM	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas
IMUNOGLOBULI IGG	**Líquor**	**3,2 ml**	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
MUCOPROTEÍNAS	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS - (PCR) QUALITATIVA	Escarro e Liquidos Corporais Urina Biopsia Secreção de Orofaringe	5 mL Enviar em frasco de U-24h Enviar em Etanol Enviar em salina	2 e 8ºC Enviar todo o volume da 1° Urina da manhã Temperatura Ambiente 2 e 8ºC	

PESQUISA ANTÍGENO URINÁRIO DE LEGIONELLA PNEUMOPHILA	Urina Recente	01 frasco	2 e 8ºC	
PESQUISA ANTÍGENO URINÁRIO DE HISTOPLASMA CAPSULATUM	Urina Recente	01 frasco	2 e 8ºC	
PESQUISA DIRETA HERPES	Raspado de lesão	-	Solicitar Kit específico no laboratório São Marcos	
PESQUISA DO VÍRUS HERPES ZOSTER NO LIQUOR - (PCR)	Liquor	2 ML	2 e 8ºC	
PESQUISA DO VÍRUS JC	LIQUOR	2 ML	2 e 8ºC	
PESQUISA TOXINAS A e B DE CLOSTRIDIUM NAS FEZES	Fezes	1/3 de frasco de fezes sem conservante	Refrigerado 2 e 8ºC	
PAINEL NGS (ANEMIA DE FANCONI)	Edta	4,0 ml	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
POLIPOSE INFANTIL	**Edta**	**4,0ml**	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
PROTEÍNA C	Plasma Citratado	2 mL	Realizar dupla centrifugação 3000 rpm por 15 min e enviar plasma	Jejum não obrigatório

			congelado.	
PROTEÍNA S	Plasma Citratado	2 mL	Realizar dupla centrifugação 3000 rpm por 15 min e enviar plasma congelado	Jejum não obrigatório
RENINA	Plasma de EDTA	2 mL	Congelado	Jejum não obrigatório
SOROLOGIA PARA BRUCELOSE - IGG	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
SOROLOGIA PARA BRUCELOSE - IGM	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
SOROLOGIA PARA MYCOPOLASMA PNEUMONIAE IGG	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum desejável de 4 horas
SOROLOGIA PARA MYCOPOLASMA PNEUMONIAE IGM	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum desejável de 4 horas
VARICELA ZOSTER IGM	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas
VARICELA ZOSTER IGG	Soro	3 a 4 mL	2 e 8ºC	Jejum 8 horas

ANEXO 4. TABELA 4. Relação de exames que são encaminhados ao laboratório de apoio HEMOMINAS, com descrição de volume, tipo de amostra e temperatura de armazenamento.

Exames Terceirizados – HEMOMINAS			
Exame	**Amostra**	**Volume (mL)**	**Armazenamento (°C)**
PCR para HTLV	EDTA	3 a 4	2 e 8ºC
PCR para HTLV	Liquor	3 ml	2 e 8ºC

ANEXO 5. TABELA 5. Relação de exames que são encaminhados ao laboratório de apoio Centro de Genomas, com descrição de volume, tipo de amostra e temperatura de armazenamento.

Exames Terceirizados – Centro de Genomas				
Exame	**Amostra**	**Volume (mL)**	**Armazenamento (°C)**	**Jejum**
Genotipagem de HCV	Plasma de EDTA	5 mL	Congelado	Jejum não obrigatório
Genotipagem de HIV	Sangue Total	5 mL	~~2 e 8ºC~~ Congelado	Jejum não obrigatório

ANEXO 6. TABELA 6. Relação de exames que são encaminhados ao laboratório de apoio HJK, com descrição de volume, tipo de amostra e temperatura de armazenamento.

Exames Terceirizados – HJK			
Exame	**Amostra**	**Volume (mL)**	**Armazenamento (°C)**
Teste Molecular Tuberculose	Líquor, Escarro, Aspirado Traqueal e Lavado Brônquio Alveolar	2 ML	2 e 8ºC

ANEXO 7. TABELA 7. Relação de exames que são encaminhados ao laboratório de apoio MOV, com descrição de volume, tipo de amostra e temperatura de armazenamento.

Exames Terceirizados – MOV			
Revisado por: Juliana Carvalho Martins	Verificado por: Vanessa Caroline Randi	Aprovado por: Tayrine Araujo Santos	Versão 03
Data: 23/04/2020	Data:23/04/2020	Data: 23/04/2020	

Exame	Amostra	Volume (mL)	Armazenamento (°C)	Jejum
Coombs Direto	EDTA	4 ml	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
Coombs Indireto	Soro	2 a 3 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório

ANEXO 8. TABELA 8. Relação de exames que são encaminhados ao laboratório de apoio HC, com descrição de volume, tipo de amostra e temperatura de armazenamento.

Exames Terceirizados – HC			
Exame	**Amostra**	**Volume (mL)**	**Armazenamento (°C)**
Pesquisa de *Plasmodium sp*	EDTA	2 ML	2 e 8ºC

Exames Terceirizados – Funed				
Exame	**Amostra**	**Volume (mL)**	**Armazenamento (°C)**	**Jejum**
IDENTIFICAÇÃO E TESTE SENSIBILIDADE MICOBACTERIAS E FUNGOS	ISOLADOS DE MICOBACTERIA OU FUNGOS	TUBO LJ SEMEADO (VERDE)	CAIXA BRANCA DE TRANSPORTE, TEMPERATURA AMBIENTE	
PCR DE RESISTÊNCIA BACTERIANA	ISOLADOS DE BACTÉRIA	PLACA SEMEADA	2 e 8ºC	
PCR DE RESISTÊNCIA HANSENÍASE	BIÓPSIA	EPENDORF COM ÁLCOOL	TEMPERATURA AMBIENTE	

CULTURA DE LEISHIMANIA VISCERAL - LV	ASPIRADO MEDULA ÓSSEA	TUBO COM MEIO MNN (VERMELHO)	2 e 8ºC	
PCR LEISHIMANIA VISCERAL AMO	ASPIRADO MEDULA ÓSSEA	EPENDORF	2 e 8ºC	
PCR LEISHIMANIA SANGUE	EDTA/SORO	3 a 4 mL	2 e 8ºC	
PESQUISA DE LEISHIMANIA VISCERAL	3 LÂMINAS	3 LÂMINAS	TEMPERATURA AMBIENTE	
PCR LINFONODO LEISHIMANIA VISCERAL	BIOPSIA LINFONODO	EPENDORF	2 e 8ºC	
CD4/CD8	EDTA	3 a 4 mL	TEMPERATURA AMBIENTE	Jejum não obrigatório
HEPATITE C (HCV-RNA) E HEPATITE B (HBV-DNA)	PLASMA	3 A 4M L	CONGELADO	Jejum não obrigatório
FEBRE AMARELA	Soro	2 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
FEBRE MACULOSA	Soro	1 mL	2 e 8ºC	Jejum não obrigatório
FEBRES HEMORRAGICAS	SORO	2 TUBOS	2 e 8ºC (ATE 24 APOS -20ºC)	Jejum não obrigatório
LEPTOSPIROSE	SORO	1 ML	2 e 8ºC POR ATÉ 5 DIAS(APOS 5 DIAS CONGELADA -20ºC)	Jejum não obrigatório
MENIGITE VIRAL	SORO	2 ML	2 e 8ºC	
Vírus respiratório	SWAB	MEIO DE TRANSPORTE	2 e 8ºC	

MENIGITE BACTERI ANA E DOENÇA MENIGOCÓCICA	SORO	2 A 3ML	AMOSTRAS INCUBADAS POR 24HORAS TEMPERATURA AMBIENTE 2 e 8ºC OU CONGELADAS COM GELO SECO	
DOENÇA DE LYME	SORO	2ML	2 e 8ºC	
DENGUE	SORO	2 TUBOS	2 e 8ºC	
CHINKUNGUNYA	SORO	2ML	2 e 8ºC	
DOENÇA DE CHAGAS	SORO	2 ML	2 e 8ºC	
DOENÇAS PRIÔNICAS	LIQUOR SANGUE COM EDTA	1 A 2 ML	2 e 8ºC TEMPERATURA AMBIENTE	
FEBRE TIFOIDE	SANGUE (HEMOCULTURA)			
MICOSES SISTÊMICAS, PARACOCCIDIOI DOMICOSE HISTOPLASMOSE	SORO	3 ML	2 e 8ºC	
PESTE	SORO	1 ML	2 e 8ºC POR ATÉ 5 DIAS(APOS 5 DIAS CONGELADA -20ºC)	
POXIVIRUS	SORO	1 ML	2 e 8ºC	
SARAMPO	SORO	1ML	2 e 8ºC	
RAIVA	SORO	2 ML	2 e 8ºC	

ANEXO 9.TABELA 9 Relação de exames que são encaminhados ao laboratório de apoio HLAGyn descrição de volume e tipo de amostra e temperatura de armazenamento.

Tipificação do Alelo HLAB*5701	Sangue Total EDTA	4 ML	2 e 8 ºc	Jejum não obrigatório

13. Referências Bibliográficas

✔Site do Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL). Disponível em: < Http://gal.funed.mg.gov.br

✔Manual de Coleta FUNED. Disponível em: < http://www.funed.mg.gov.br/publicacoes-e-manuais/manuais/

✔Site Laboratório São Marcos. Disponível em: < http://186.246.6.163/web_laudos/index.asp

E. POP-MICRO-013:RECEBIMENTO E ACEITABILIDADE DAS AMOSTRAS NO SETOR DE MICROBIOLOGIA

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICRO-013
	Versão: 04
RECEBIMENTO E ACEITABILIDADE DAS AMOSTRAS NO SETOR DE MICROBIOLOGIA	Setor: Microbiologia
	Folha 1 de 23

SUMÁRIO

1.	Sinonímia e Símbolos	02
2.	Princípio	02
3.	Responsabilidades	03
4.	Materiais e Reagentes	03
5	Procedimentos	03
6.	Amostras	05
6.1	Tipos de amostras	05
6.2	Coletas, Armazenamento e estabilidade	06
7.	Critérios de Rejeição	11
8.	Fluxograma de recebimento das biópsias	15
9.	Notificações de Eventos Adversos	16
10.	Registros	18
11.	Notas adicionais	18
12.	Referências Bibliográficas	23

Revisado por: Fernanda Cristina Guedes	Verificado por: Tatiane Melo Cunha	Aprovado por: Tayrine Araújo	Próxima revisão 05/2022	Versão 04
Data: 06/05/2020	Data: 06/05/2020	Data: 15/05/2020		

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICRO-013 Versão: 04
RECEBIMENTO E ACEITABILIDADE DAS AMOSTRAS NO SETOR DE MICROBIOLOGIA	Setor: Microbiologia Folha 2 de 23

CONTROLE HISTÓRICO

REVISÃO	DATA	Nº PÁGINAS	HISTÓRICO ALTERAÇÃO	ELABORAÇÃO	VERIFICAÇÃO	APROVAÇÃO
00	22/05/2013	07	Emissão inicial	Tayrine Araújo	Cristiana Resende	Ana Maria Bolina
01	13/10/2015	15	Alteração de rotina	Tatiane Maria da Silva Dutra e Vanessa Magalhães	Vanessa Magalhães	Tayrine Araújo
02	06/12/2016	15	Fluxograma para recebimento de biópsias	Tayrine Araújo	Vanessa Magalhães	Tayrine Araújo
03	07/07/2019	16	Revisão	Liliane Linhares de Oliveira	Fernanda Cristina Guedes	Fernanda Cristina Guedes
04	07/07/2019	24	Atulização de pop	Fernanda Cristina Guedes	Tatiane Melo Cunha	Tayrine Araújo

1. Sinonímia e Símbolos

POP – Procedimento Operacional Padrão
HEM- Hospital Eduardo de Menezes

2. Princípio

O Laboratório de Microbiologia tem como objetivo o isolamento e a identificação dos agentes etiológicos envolvidos em processos infecciosos e a realização de testes de sensibilidade aos antimicrobianos. Para que este objetivo seja atingido com êxito, é fundamental a coleta, conservação e o transporte adequado dos espécimes clínicos.

Revisado por: Fernanda Cristina Guedes Farmacêutica-bioquímica CRF-MG 22678 HEM/FHEMIG	Verificado por: Tatiane Melo Cunha	Aprovado por: Tayrine Araújo	Próxima revisão 05/2022	Versão 04
Data: 06/05/2020	Data: 06/05/2020	Data: 15/05/2020		

A qualidade da amostra biológica relaciona-se diretamente com a fase pré-analítica, que corresponde a todos os procedimentos envolvidos na coleta de especimes. A coleta adequada é o fator de maior impacto para a qualidade final dos resultados dos exames microbiogicos.
Compete ao laboratório de Microbiologia ter normas bem estabelecidas para a coleta adequada dos mais diversos materiais clínicos. Coleta e/ou transporte inadequados podem ocasionar falhas no isolamento do agente etiológico causador da infecção, favorecer o desenvolvimento da flora contaminante habitual, induzindo a um tratamento inapropriado, portanto, a qualidade do resultado liberado pelo laboratório está diretaente relacionada à qualidade da amostra recebida.
O laboratório de Microbiologia do Hospital Eduardo de Menezes utiliza como referências de amostras microbiologicas, o manual de coleta em microbiologia do Hospital João XXIII-FHEMIG e manual de coleta da Funed. Ambos disponíveis na área de trabalho.
Este POP visa fornecer informações sobre o armazenamento e o transporte correto das amostras biológicas, de forma a garantir a sua padronização e, consequentemente, a qualidade das amostras que serão processadas no Laboratório.

3. Responsabilidades

Técnicos de patologia clínica, enfermeiros, fisioterapeutas, secretárias, farmacêuticos-bioquímicos e Médico-patologista.

4. Materiais e Reagentes

Maletas de transporte.

5. Procedimentos

A requisiçãoo médica correta e completa é de fundamental importância para o Laboratório de Analises Clínicas, em especial, para o setor de Microbiologia. As

informações clínicas auxiliam o Laboratório a interpretar os achados e sugerir, quando necessário, procedimentos complementares. A solicitação exame dever ser realizada através do sistema SIGH, tendo o cuidado de **selecionar o** pacote ou código adequado para cada amostra. Solicitações utilizando códigos incorretos poderão inviabilizar a realização do do exame desejado, visto que o plantio e a conduta para o isolamento de micro-organismos é diferenciada para cada amostra. Além disso, códigos incorretos podem também impossibilitar a disponibilização dos resultados pelo sistema SIGH.
A identificação correta da amostra é de fundamental importância para a qualidade das análises. O envio de amostras ao Laboratório com identificação incompleta ou incorreta pode gerar a sua rejeição com prejuízos para a assistência ao paciente.

5.1 Conferência: **Requisição Médica**

Conferir o pedido médico observando os itens abaixo:

. Identificação do paciente: nome completo, número de prontuário e registro;
. Local de internação;
. Data de solicitação;
. Identificação da amostra: sítio de coleta e tipo de amostra;
. Uso de antimicrobianos (recomendado);
. Suspeita clínica (recomendado);
. Exames solicitados;
. Identificação do solicitante: nome e CRM legíveis.

5.2 Conferência: **Identificação da Amostra**

A amostra deverá estar identificada com:

. Nome do paciente;
. Número de registro do paciente;
. Setor;

. Sítio anatômico;
. Data e horário da coleta;
. Responsável pelo procedimento. O profissional que realiza a coleta seja ele médico, enfermeiro, fisioterapeuta, e outros, são os responsáveis pela sua correta identificação.

5.3 **Biossegurança**

O profissional que irá realizar a coleta deverá sempre:

• Usar equipamento de proteção individual (luvas, avental e óculos de proteção);
• Usar máscara N-95 quando indicado (secreções respiratórias);
• Observar as normas de manipulação e descarte dos materiais utilizados;
• Cuidar da segurança do paciente, da sua própria segurança e também da dos demais colegas que compartilham o ambiente de trabalho.

5.4 **Transporte do Material**

Após a coleta, o material deverá ser imediatamente transportado ao Laboratório, dentro das maletas de transporte, a fim de:

• Assegurar a sobrevivência e o isolamento do agente infeccioso;
• Evitar o contato prolongado com os anestésicos eventualmente utilizados durante a coleta, pois estes podem exercer ação bactericida;
• Evitar erros de interpretação nas culturas quantitativas.

6. Amostra

6.1 Tipos de amostras

- Aspirado de Medula Óssea;
- Aspirado Traqueal;

- Mini – ball;
- Lavado BroncoAlveolar
- Escarro;
- Fezes
- Fragmentos de biopsias, tecidos.
- Lavado brônquico ou lavado bronco-alveolar;
- Líquidos orgânicos, ou Líquidos biológicos (líquor, líquido pleural, líquido ascítico, líquido peritoneal).
- Ponta de Cateter;
- Biópsias;
- Secreções do Trato respiratório superior;
- Swabs de secreções;
- Urina;

6.2 **Coletas, Armazenamento e estabilidade**

Os quadros abaixo descrevem os recipientes adequados onde as amostras biológicas coletadas devem ser acondicionadas, o tempo de envio, estabilidade e a temperatura de envio ao laboratório.
Os meios de transportes são inertes, isto é, preservam a viabilidade dos microrganismos nas amostras, mas evitam a ploriferação bacteriana quando usados para transportes de amostras clínicas, mantendo assim a proporção e a quantidade de diversos microrganismos presentes.
A estabilidade da amosta refere-se ao tempo que ela se mantém viável para um eventual processamento posterior que porventura venha a ser necessário.

6.2.1 Guia simplificado de materiais de coleta, tempo e temperatura de envio ao laboratório e estabilidade das amostras clinicas para isolamento de bactérias anaeróbias facultativas.

Isolamento de bactérias aeróbias facultativas				
Tipo de amostra	**Material de coleta**	**Tempo até o envio ao laboratório**	**Estabilidade da amostra**	**Temperatura de envio ao laboratório**
Aspirado e exsudatos	Seringa ou swab com meio de transporte.	≤ 2h TA	≤24h REFR	Temperatura ambiente
Escarro	Frasco estéril	≤ 2h TA	≤24h REFR	Temperatura ambiente
Secreção traqueal	Frasco estéril	≤ 2h TA	≤24h REFR	Temperatura ambiente
Lavado broncoalveolar	Frasco estéril	≤ 2h TA	≤24h REFR	Temperatura ambiente
Trato respiratório superior (orofaringe, nasal e nasofaringe)	Swab com meio de transporte	≤ 12h	≤24h TA	Temperatura ambiente
Líquidos orgânicos (pleural, peritoneal, ascítico, pericárdico)	Frasco estéril Frasco de hemocultura	≤ 2h TA ≤12h TA	≤24h REFR ≤24h TA	Temperatura ambiente
Sangue e Medula óssea	Frasco de hemocultura	≤ 12h TA	≤ 12h TA	Temperatura ambiente
Fragmentos de biópsia, tecido e osso	Frasco contendo solução fisiológica estéril	≤ 2h TA	≤24h REFR	Temperatura ambiente
Fezes	Frasco estéril seco	≤ 1h TA	≤24h REFR Se colocada em meio conservante	Temperatura ambiente
Líquor	Frasco estéril	Imediatamente TA	≤24h REFR	Temperatura ambiente
Ponta de cateter	Frasco estéril	≤ 1h TA	≤12h REFR	Temperatura ambiente

Urina de jato médio	Frasco estéril	≤ 2h TA Até 12 horas REFR	≤24h REFR	Temperatura ambiente
Secreções genitais (vaginal, cervical, uretral e lesão)	Swab com meio de transporte	≤ 12h TA	≤24h REFR	Temperatura ambiente
Amostra para pesquisa de ESBL (swab retal, trato respiratório inferior)	Swab com meio de transporte ou frasco estéril	≤ 2h TA	≤24h TA	Temperatura ambiente
Amostra para pesquisa de VRE (swab retal ou fezes)	Swab com meio de transporte	≤ 2h TA	≤24h TA	Temperatura ambiente
Amostra para pesquisa de ORSA/MARSA (swab nasofaringe,axilar e ou iguinal)	Swab com meio de transporte	≤ 2h TA	≤24h TA	Temperatura ambiente
Amostra para pesquisa de Streptococcus B(vaginal e retal)	Swab com meio de transporte	≤ 2h TA	≤24h TA	Temperatura ambiente

TA: Temperatura ambiente (20-25°C)
REFR: Refrigerado a temperatura (2-8°)
Volume de coleta de sangue: Adulto 10 mL .
Volume de coleta de urina: Adulto 10 mL .
Anexo 3 : Tabela informando volume suficiente para realização do Líquor.

6.2.2 Guia simplificado de materiais de coleta, tempo e temperatura de envio ao laboratório e estabilidade das amostras clinicas para isolamento de fungos.

Isolamento de fungos				
Tipo de amostra	**Material de coleta**	**Tempo até o envio ao laboratório**	**Estabilidade da amostra**	**Temperatura de envio ao laboratório**
Fragmento de pele e couro cabeludo	Frasco estéril	≤ 24h TA	**Não determinada**	Temperatura ambiente
Secreções Biópsias	Seringa ou swab com meio de transporte	≤ 2h TA	≤24h REFR	Temperatura ambiente
Líquidos ou aspirados	Frasco estéril	≤ 2h TA	≤24h REFR	Temperatura ambiente
Sangue e medula óssea	Frasco de hemocultura específico	≤ 2h TA	≤24h TA	Temperatura ambiente
Medula óssea	Ágar Sabouroud e Mycosel	≤ 2h TA	**Não determinada**	Temperatura ambiente

TA: Temperatura ambiente (20-25°C)
REFR: Refrigerado a temperatura (2-8°)

6.2.3 Guia simplificado de materiais de coleta, tempo e temperatura de envio ao laboratório e estabilidade das amostras clinicas para isolamento de Micobactérias.

Isolamento de Micobactérias				
Tipo de amostra	**Material de coleta**	**Tempo até o envio ao laboratório**	**Estabilidade da amostra**	**Temperatura de envio ao laboratório**
Escarro	Frasco estéril	≤ 12h TA ou refrigerada por 6 dias	≤ 1 semana REFR	Temperatura ambiente
Lavado broncoalveolar, escarro induzido	Frasco estéril	≤ 12h TA	≤24h REFR	Temperatura ambiente
Líquor	Frasco estéril	≤ 2h TA	≤24h REFR	Temperatura ambiente
Urina***	Frasco estéril	≤ 2h REFRI ou Imediatamente TA	≤24h REFR	Temperatura ambiente
Fragmento de tecido, biópsias e líquidos orgânicos	Frasco estéril	≤ 2h TA	≤ 24h REFR	Temperatura ambiente
Sangue	Frasco de hemocultura específico	≤ 2h TA	≤ 12h TA	Temperatura ambiente
Medula óssea	Ágar Lowenstein-Jensen	≤ 2h TA	**Não determinado**	Temperatura ambiente
Fezes	Frasco estéril	≤ 2h TA	≤ 24h REFR	Temperatura ambiente

TA: Temperatura ambiente (20-25°C)
REFR: Refrigerado a temperatura (2-8°)

*** **Urina** – Deve-se coletar toda a urina da primeira micção da manhã em frasco estéril, de boca larga, após higiene íntima com água e sabão neutro, com volume mínimo de 40 ml. Utiliza-se um número mínimo de três e máximo de seis amostras, coletadas em dias consecutivos. Transportar com o cuidado de manter a tampa bem fechada para não derramar.

7. Critérios de Rejeição

Para garantir a qualidade do exame, os cuidados de coleta, identificação e envio imediato ao Laboratório deverão sempre ser respeitados. Ao receber as amostras biológicas o laboratório de microbiologia deve verificar:

- Se a amostra está devidamente identificada com nome do paciente, sitio anatômico, data e horário da coleta.
- Amostras com erros de identificão e apresentando discrepâncias com a requisição médica;
- Material não acompanhado do pedido médico;
- Se o volume, quando pertinente, da amostra está adequado para realização dos exames solicitados se não tiver o volume sulficiente consultar o médico solicitante quais os exames serão priorizados.
- Se a amostra foi coletada em meios de transportes, swabs e/ou frascos apropriados.
- Se a amostra e adequada para realizar o exame solicitado.
- Intervalo entre a coleta e a chegada ao Laboratório superior ao preconizado;

As amostras não deverão ser rejeitadas (desprezadas) sem antes fazer uma avaliação critica de sua natureza. Lembrar que amostras coletadas por meio de técnicas invasivas ou amostras como fragmentos ósseos e biópsias não podem ser obtidas novamente. Consultar o médico ou responsável pelo setor.
As tabelas abaixo possuem informações sobre os critérios de rejeição de amostras.

Observação: o Laboratório de Microbiologia tem autonomia para recusar o recebimento de material colhido de forma inadequada e solicitar novo material.

7.1 **Critérios para rejeição de amostras**

MATERIAL	CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO
TODAS AS AMOSTRAS BIOLÓGICAS	Amostras sem identificação
	Amostras insuficientes (avaliar)
	Amostras em recipiente inadequado/quebrados.
	Amostras com acondicionamento/transporte inadequado
	Amostras com temperatura inadequada

7.2 **Critérios para rejeição de amostras para culturas de Bactérias anaeróbias facultativas**

MATERIAL	CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO
Amostram já semeados ou Isolados bacterianos	Frascos ou tubos sem identificação.
	Meios de Cultura ressecados, não íntegros, vencidos.
	Semeaduras em meios não específicos.
MATERIAL	**CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO**
Biópsias	Amostra conservada em formol.
MATERIAL	**CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO**
Fezes	Fezes contaminadas com urina.
MATERIAL	**CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO**
Ponta de Cateter	Frasco ou tubo não estéril.
	Frasco com solução fisiológica.
MATERIAL	**CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO**
Secreções (feridas, abscessos, exsudatos)	Seringa destampada.
	Frasco com vazamento.
	Amostras enviadas em swabs (seco) sem meio de transporte apropriado.

7.3 **Critérios para rejeição de amostras para culturas de Fungos**

MATERIAL	**CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO**
Amostras de Tecidos (Biópsias)	Amostras acondicionadas em formol ou secas (ausência de salina).
MATERIAL	**CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO**
Sangue e Aspirado de Medula Óssea	Amostras colhidas com EDTA.
	Culturas semeadas em meio de cultivo quebrado, ou não padronizado pela rotina (Mycosel e Sabourand).
MATERIAL	**CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO**
Líquidos ou aspirados	Amostra colhida a mais de 2 horas à temperatura ambiente ou a mais de 24 horas sem refrigeração.

7.4 **Critérios para rejeição de amostras para culturas de Micobactérias**

MATERIAL	**CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO**
Escarro	Recipientes inadequados (frascos ou vidros).
	Frascos vazios ou com vedação inadequada.
	Amostras coletadas a mais de 3 dias.
MATERIAL	**CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO**
Lavados Brônquicos	Amostra colhida a mais de 12 horas à temperatura ambiente.
MATERIAL	**CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO**
Urina	Amostra colhida a mais de 24 horas sem refrigeração.
MATERIAL	**CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO**
Líquidos biológicos	Colhidos em frascos não estéreis
	Volume menor do que 1 mL priorizar exames
	Amostra colhida a mais de 2 horas à temperatura ambiente e a mais de 24 horas sem refrigeração.
MATERIAL	**CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO**
Biópsia	Amostra colhida a mais de 2 horas à temperatura ambiente e a mais de 24 horas sem refrigeração. Avaliar com responsável do setor

Observação: o Laboratório de Microbiologia tem autonomia para recusar o recebimento do material colhido de forma inadequada e solicitar novo material.

7.5 **Critérios para recebimento com restrição**

Tipo de amostra	Material de coleta	Recebidas com restrição
Aspirado de medula óssea (AMO)	Lâminas quebradas	Podem ser recebidas desde que a parte quebrada não comprometa a realização do exame e identificação da amostra.
Biópsias	Coleta a mais de 2h TA ou a mais de 24h sem REFRIGERAÇÃO	Solicitar avaliação do responsável do setor para o recebimento.
Liquor	Volume insuficiente	Priorizar exames conforme orientação médica.
Ponta de cateter	Medida superior ao recomendado	Realizar a semeadura e inserir no laudo e caderno específico do setor: Amostra recebida com restrição.
Escarro com aspecto de saliva	Processar,e inserir no laudo e caderno específico no setor	Amostra recebida com restrição. Aspecto salivar.

Observação: Deve ser registrado no caderno do setor(amostras recebidas com restrição) informando o motivo do recebimento da amostra com restrição para que seja inserido no laudo na liberação do exame.

7.6 **Critérios para amostras rejeitadas**

Registrar os dados da coleta no caderno do setor como: colhedor, data e hora.
Registrar as recoletas no caderno do setor e solicitar nova coleta via sistema.

Amostra	Procedimento
Material recebido em formalina	Não processar para cultura
Urina de 24 horas	Não processar
Amostras respiratórias	Para pesquisa de BAAR -Não processar amostras colhidas com intervalo inferior a 8 horas.
Ponta de cateter urinário;	Não processar
Vômito	Não processar
Ponta de cateter em solução salina	Não processar
Urina contaminada com fezes ou fezes contaminada com urina	Solicitar nova amostra
Swab de úlcera de decúbito	Sugerir biópsia de tecido, aspirado ou raspado de tecido profundo da lesão após desinfecção da superfície.
Swab de feridas de queimaduras	Sugerir biópsia de tecido, aspirado ou raspado de tecido profundo
Amostras de sangue apenas para microscopia	Não realizar pela baixa sensibilidade. Realizar apenas após a cultura apresentar positividade.

8. Fluxograma de recebimento das biópsias:

1) Conferir no pote o nome, data coleta, horário e amostra,
2) Conferir o pedido do SIGH o nome e a amostra,
3) Para amostras no frasco de citologia e exame histopatológico conferir a numeração do frasco que deve estar no pedido também.
4) As biópsias para culturas devem vir em potes estéreis em salinas e acondicionadas na porta da geladeira da microbiologia.
5) Os potes de anatomopatológico devem ser acondicionados à temperatura ambiente na caixa em cima da geladeira, junto com pedido e lâminas.

6) As culturas de leishmania tegumentar e visceral são realizadas no Renne Rachou e devem ser encaminhadas à distribuição para o envio. Armazenar a temperatura ambiente.
7) O PCR para leishmania Visceral (EDTA) deve ser armazenado em refrigerador na geladeira da distribuição e o pedido entregue à distribuição para o envio ao Renne Rachou.
8) O PCR para leishmania Tegumentar (ependorf) deve ser armazenado no congelador da distribuição e o pedido entregue à distribuição para o envio à FUNED.
9) Para fixar: divisão dos exames ambulatoriais

EXAMES MICROBIOLOGIA: pesquisa de BK, Cultura de BK, Cultura aeróbios.
EXAMES MICOLOGIA: pesquisa de fungos, pesquisa de *Leishmania*, cultura de fungos
EXAMES RENNE RACHOU: cultura *Leishmania* tegumentar e PCR *Leishmania* tegumentar
EXAMES FUNED: PCR *Leishmania* viceral amostra armazenada na geladeira.

9. Notificações de Eventos Adversos

Quando uma amostra de material nobre for rejeitada, pelo fato de ser encaminhado pela enfermagem em meio de culturas vencidos, preencher a ficha de Notificação de Eventos Adversos e encaminhá-la ao núcleo de risco.

Anexo 1- Formulário de Notificação de Eventos Adversos

←	FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS **FORMULÁRIO PARA NOTIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DE SUSPEITA DE EVENTOS ADVERSOS – HEM/FHEMIG**	
O profissional no	**Responsável pela notificação:**	**Setor:**
	Data da ocorrência: / /	
	Informar os dados do paciente, se a ocorrência do evento adverso envolveu o mesmo:	
	Nome do paciente:	**Número do prontuário:**
	1. O que e como aconteceu? *(Detalhar o evento adverso ocorrido)*	
	2. Quando e onde aconteceu? *(Detalhar local/horário/envolvidos, etc)*	
	3. O que foi feito? *(Descrever as ações adotadas após a ocorrência do evento adverso)*	
	4. Existe possibilidade de ocorrência nas próximas 24 horas? ( ) Sim ( ) Não Se sim, quais medidas podem ser adotadas para prevenção da ocorrência imediatamente?	

10. Registros

- A solicitação de novo material com o devido motivo de recoleta devem ser registrados no "Caderno de registro de novo material" no setor de Microbiologia. Solicitar novo material da amostra no sistema. De acordo com o anexo 2.
- As amostras recebidas com restrição devem ser registradas no "Caderno de amostras recebidas com restrção" no setor de Microbiologia. De acordo com o anexo 3.

11. Notas adicionais

Pontos importantes a serem observados para garantir a qualidade do processo de coleta dos exaes de Microbiologia:

- Coletar material do sítio de infecção com técnica de antissepsia adequada.
- Evitar ou minimizar a contaminação externa da amostra. Abrir os recipientes somente no momento da coleta e não tossir ou falar sobre a amostra.
- Estabelecer o melhor momento para coleta de um determinado espécime clínico que permita a melhor chance de isolar o microrganismo causador da infecção.
- Quando viavel, dar preferência para coleta por aspirado com seringa e agulhas em detrimento do swab, reduzindo, assim, a contaminação e o ressecamento da amostra.
- Quantidade suficiente da amostra deve ser obtida para realização dos testes solicitados pelo médico requisitante.
- Materiais de coleta e transporte adequado devem ser usados para que permita o melhor isolamento do microeganismo.
-Sempre que possível, coletar a amostra antes da administração de antimicrobianos.
-Verificar a solicitação médica e o local de onde deve ser obtida a amostra antes de proceder a coleta.

- Uso de swabs: Utilizar preferencialmente swabs que venham com meio de transporte (Stuart), o envio de swab seco ou com secreção muito escassa pode gerar resultados falso-negativos ou pouco significativos, na falta do meio de transporte, umedecer o swab com algumas gotas de solução salina 0,9% estéril. Quando, além da cultura, for solicitado bacterioscopia pelo Gram, deverá ser colhido um swab adicional sem meio de transporte (umedecido com solução salina estéril) para essa finalidade.
- Informar (registrar) o uso de medicamentos ou anti-sépticos.
- Informar as dificuldades que possam ter ocorrido durante a coleta, as características das lesões e a inviabilidade para seguir as recomendações padronizadas.

Anexo 2. Modelo de planilha para registro de amostras rejeitadas.

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS

HOSPITAL EDUARDO DE MENEZES
Laboratório de Análises Clínicas
Setor: Microbiologia

Formulário de Registro de Pedido de Recoleta

Data	Nome do Paciente	Exame/Amostra	Motivo	Devolvido por	Horário	Devolvido para

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICRO-013 Versão: 04
RECEBIMENTO E ACEITABILIDADE DAS AMOSTRAS NO SETOR DE MICROBIOLOGIA	Setor: Microbiologia Folha 21 de 23

Anexo 3. Modelo de planilha para amostras recebidas com restrição.

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS

HOSPITAL EDUARDO DE MENEZES PAG:
Laboratório de Análises Clínicas
Setor: Microbiologia

Formulário de Comunicação – AMOSTRAS RECEBIDAS COM RESTRIÇÃO

Data	Nome do Paciente	Número do exame	EXAME/AMOSTRA	MOTIVO DA RESTRIÇÃO	HORÁRIO	BIOQUIMICO RESPONSAVEL

Revisado por: Fernanda Cristina Guedes	Verificado por: Tatiane Melo Cunha	Aprovado por: Tayrine Araújo	Próxima revisão 05/2022	Versão 04
Data: 06/05/2020	Data: 06/05/2020	Data: 15/05/2020		

Anexo 4

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS

Hospital Eduardo de Menezes
Laboratório de Análises Clínicas
Setor de Microbiologia

VOLUME PARA REALIZAÇÃO LIQUOR	Data: 26/12/2019
De: LAC - HEM - MICRO	Para: LAC - HEM – CHEFIA IMEDIATA

Cultura em geral: 100uL
Cultura de fungos: 100uL
Pesquisa de fungos: 100uL
VDRL: 100uL
Proteínas totais: 100uL
Cultura de BAAR - BK: 50uL
Gram bacterioscopia: 100uL
Cryptococcus teste - rápido: 50uL
BAAR - Liquor: 100uL
Glicose: 100uL
Látex meningite - Liquor: 1000uL
Pesquisa do virus JC - PCR: 2mL
Pesquisa Herpess Zoster IgM no liquor: 2mL
Pesquisa Herpess Zoster IgG no liquor: 2mL
PCR Herpes simples no liquor: 4mL
FTABS IgM e IgG no liquor: 3,2mL
ADA no líquor: 1mL
PCR citomegalovirus: 4mL
Teste rápido molecular: 2mL.
Volume total: 22,1 mL

Farmacêutica- bioquímica
Coordenadora Microbiologia

13. Referências Bibliográficas

- OPLUSTIL, C.P., ZOCCOLI, C.M., TOBOUTI, N.R., SINTO, S.I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica.** São Paulo: Sarvier, 2010.

- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 4 : Procedimentos Laboratoriais: da requisição do exame à análise microbiológica e laudo final.** Brasília: Anvisa, 2013.

- FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS. Manual de coleta em Microbiologia, Laboratório de patologia clínica – Hospital Joao XXIII, Belo Horizonte, revisada em 2016.

- FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS. Manual de Coleta, Acondicionamento e Transporte de Material BiolÛgico para Exames Laboratoriais: Versão Revisada Maio/2013. DisponÌvel em: Acesso em outubro de 2013.

F. POP-MIC0-001: COLETA DE RASPADO INTRADÉRMICO.

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICO-001 Versão: 03
Coleta de Raspado Intradérmico	Setor: Micologia Folha 1 de 8

SUMÁRIO

1.	**Sinonímia e Símbolos**	**02**
2.	**Indicação médica**	**02**
3.	**Princípio e Método**	**02**
3.1	Princípio	**02**
3.2	Método	**02**
4.	**Amostra**	**02**
4.1	Tipo de Amostras	**02**
4.2	Preparo do paciente	**03**
4.3	Coleta e armazenamento	**03**
4.4	Estabilidade	**04**
4.5	Critérios de rejeição	**04**
5.	**Responsabilidades**	**04**
6.	**Materiais e Reagentes**	**04**
7.	**Equipamentos**	**05**
8.	**Procedimentos**	**05**
9.	**Resultados**	**06**
9.1	Valores de Referência	**06**
9.2	Cálculos	**06**
9.3	Interpretação Clínica	**06**
9.4	Valores Críticos	**06**
10.	**Registros**	**07**
11.	**Controle de Qualidade**	**07**
12.	**Notas adicionais**	**07**
13.	**Referências Bibliográficas**	**07**

Liliane Linhares de Oliveira
Farmacêutica-Bioquímica
CRF-MG

Vanessa Carolina R. Magalhães
Farmacêutica-Bioquímica
CRF-MG 19669

Revisado por: Vanessa C.R. Magalhães	Verificado por: Liliane Linhares de Oliveira	Aprovado por: Vanessa C.R. Magalhães	Versão 03
Data: 24/08/2018	Data:26/08/2018	Data:01/09/2018	

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICO-001 Versão: 03
Coleta de Raspado Intradérmico	Setor: Micologia Folha 2 de 8

CONTROLE HISTÓRICO						
REVISÃO	**DATA**	**Nº PÁGINAS**	**HISTÓRICO ALTERAÇÃO**	**ELABORAÇÃO**	**VERIFICAÇÃO**	**APROVAÇÃO**
00	11/11/2009	02	Emissão inicial	Hyllo Baeta Marcello Júnior	Hyllo Baeta Marcello Júnior	Hyllo Baeta Marcello Júnior
01	01/07/2014	02	Revisão	Hyllo Baeta Marcello Júnior	Hyllo Baeta Marcello Júnior	Hyllo Baeta Marcello Júnior
02	25/08/18	7	Revisão	Vanessa C. R. Magalhães	Liliane Linhares de Oliveira	Vanessa C. R. Magalhães

1. Sinonímia e Símbolos

Mycobacterium leprae – bacilo de Hansen

2. Indicação Médica

A hanseníase é uma doença infectocontagiosa, crônica, granulomatosa e de evolução lenta, causada pelo *Mycobacterium leprae* (bacilo de Hansen). O diagnóstico laboratorial da hanseníase é importante para auxiliar no diagnóstico diferencial com outras doenças dermatoneurológicas, casos suspeitos de recidiva e na classificação para fins de tratamento. Nestes casos, o exame baciloscópico do raspado intradérmico (baciloscopia) é o método comumente utilizado por ser de fácil execução, pouco invasivo e de baixo custo.

3. Princípio e Método

3.1 Princípio

Descrever o procedimento de coleta de raspado intradérmico em pacientes com suspeita clínica ou acompanhamento de hanseníase.

3.2 Método

Raspado intradérmico utilizando pinça de kelly e bisturi Nº 15.

Vanessa Caroline R. Magalhães Farmacêutica-Bioquímica CRF-MG 18599 MASP 1261744-4 - HEM/FHEMIG

Revisado por: Vanessa C.R. Magalhães	Verificado por: Liliane Linhares de Oliveira	Aprovado por: Vanessa C.R. Magalhães	Versão 03
Data: 24/08/2018	Data:26/08/2018	Data:01/09/2018	

4. Amostra

4.1 Tipo de amostras

Raspado intradérmico dérmico de lesão, lóbulos das orelhas e cotovelos.

4.2 Preparo do Paciente

Assepsia com álcool 70% no algodão.

4.3 Coleta e armazenamento

- Conferir o pedido médico e conferir o nome do paciente;
- Imprimir etiquetas,
- Separar os materias necessários;
- Identificar as lâminas, com lápis, no lado fosco com: nº etiqueta, nome paciente e data;
- Sentar o paciente e fazer uma breve explicação sobre a coleta a ser realizada;
- Selecionar os sítios de coleta (lóbulo direito, lóbulo esquerdo, cotovelo direito e cotovelo esquerdo; em caso de lesão, substituir a coleta do cotovelo do lado da lesão pela coleta da lesão) e realizar a assepsia co algodão embebido com álcool 70%;
- Calçar luvas e com o auxílio da pinça de Kelly, fazer uma prega no sítio de coleta, pressionando a pele o suficiente para obter a isquemia, evitando o sangramento. Manter a pressão até o final da coleta tomando cuidado para não travar a pinça;
- Fazer um corte na pele de aproximadamente 5mm de extensão por 3mm de profundidade. Colocar o lado não cortante da lâmina do bisturi em ângulo reto em relação ao corte e realizar o raspado intradérmico das bordas e do fundo da incisão, retirando quantidade suficiente e visível do material. Se fluir sangue no momento do procedimento (o que não

deverá acontecer se a compressão da pele estiver adequada) enxugar com algodão.

- Desfazer a pressão e distribuir o material coletado na lâmina, fazendo movimentos circulares do centro para a borda numa área aproximadamente de 5 – 7mm de diâmetro, mantendo uma camada fina e uniforme. O primeiro esfregaço deverá ser colocado na extremidade mais próxima da identificação do paciente (parte fosca), e o segundo próximo ao primeiro observando uma distância, de pelo menos 0,5cm entre cada amostra e assim sucessivamente, distância, de pelo menos 0,5cm entre cada amostra e assim sucessivamente.
- Os esfregaços devem estar no mesmo lado da parte fosca da lâmina.
- Entre um sítio e outro de coleta, limpar a lâmina do bisturi e a pinça utilizada com algodão ou gaze embebido em álcool 70%, para que não ocorra a contaminação entre eles.
- Fazer curativo compressivo, pedir que o paciente aguarde cerca de 30 minutos para que o sangue seja estancado e só liberá-lo após a retirada dos curativos.
- Os esfregaços devem estar no mesmo lado da parte fosca da lâmina.
- Entre um sítio e outro de coleta, limpar a lâmina do bisturi e a pinça utilizada com algodão ou gaze embebido em álcool 70%, para que não ocorra a contaminação entre eles.
- Fazer curativo compressivo, pedir que o paciente aguarde cerca de 30 minutos para que o sangue seja estancado e só liberá-lo após a retirada dos curativos.

- As lâminas contendo os raspados intradérmicos devem permanecer em superfície plana e à temperatura ambiente, durante cinco a dez minutos até estarem completamente secos.
- As lâminas devem ficar armazenadas em porta lâminas dentro da caixa de armazenamento de amostras biológicas do setor até que sejam coradas para análise.

Obs.: Nas lesões planas, coletar no limite interno. Nos nódulos, tubérculos e placas eritematosas marginadas por microtubérculos, coletar no centro.

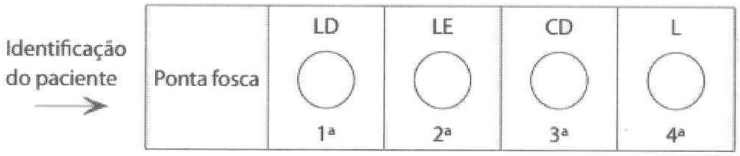


Figura 1 – Disposição dos esfregaços em lâmina de vidro.

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

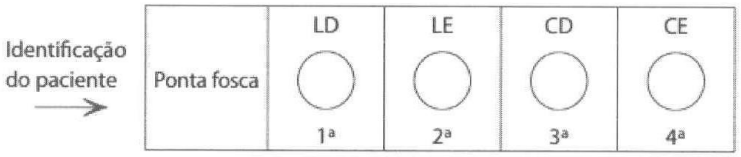


Figura 2 – Disposição dos esfregaços em lâmina de vidro.

4.4 Estabilidade

Não se aplica.

4.5 Critérios de Rejeição

Esfregaço com grande quantidade de sangue.

5. Responsabilidades

- ✓ Técnicos de laboratório
- ✓ Farmacêuticos-Bioquímicos

6. Materiais e Reagentes

- ✓ Lâmina de vidro para microscopia, nova, limpa e desengordurada, com ponta fosca 26 x 76mm;
- ✓ Álcool 70°GL ou 70%;
- ✓ Gaze não estéril;
- ✓ Algodão hidrófilo;
- ✓ Lápis comum;
- ✓ Lâmina de bisturi nº 15;
- ✓ Esparadrapo ou bandagem antisséptica;
- ✓ Luvas de procedimento;
- ✓ Máscara;
- ✓ Pinça de Kelly curva ou reta para fazer isquemia no local da incisão.

7. Equipamentos

Utilizar os equipamentos de proteção individual: luvas, avental, máscara N95 e óculos.

8. Procedimentos

Descrito em tópico 4.3 deste POP.

9. Resultados

Negativo (IB = 0).

9.2 Cálculos

Não se aplica.

9.3 Interpretação Clínica

Não se aplica.

9.4 Valores Críticos

Não se aplica.

10. Registros

A etiqueta gerada pelo sistema Liga durante o atendimento do paciente deve ser colada no pedido médico, que deve também ser assinado e datado por quem realizou a coleta. O responsável pela coleta deve também carimbar o pedido médico com o carimbo onde o resultado será registrado para posterior lançamento no sistema Liga. Em seguida o pedido médico é arquivado como dado bruto.

11. Controle de Qualidade

Uma lâmina considerada adequada é aquela que se visualizam muitos macrófagos na leitura da baciloscopia caracterizando assim, uma amostra bem colhida.

12. Notas adicionais

Não se aplica.

13. Referências Bibliográficas

- ✓ Atualização em baciloscopia de hanseníase – Secretaria de Estado da Saúde – Governo do Estado de Minas Gerais, 2005.
- ✓ Baciloscopia em Hanseníase – Ministério da Saúde – Brasília, 2010.

G. POP-MICO-002: COLORAÇÃO PELO MÉTODO DE ZIEHL-NEELSEN A FRIO

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICO-002 Versão: 03
Coloração pelo Método de Ziehl-Neelsen a Frio	Setor: Micologia Folha 1 de 5

SUMÁRIO

1.	**Sinonímia e Símbolos**	**02**
2.	**Indicação médica**	**02**
3.	**Princípio e Método**	**02**
3.1	Princípio	**02**
3.2	Método	**03**
4.	**Amostra**	**03**
4.1	Tipo de Amostras	**03**
4.2	Preparo do paciente	**03**
4.3	Coleta e armazenamento	**03**
4.4	Estabilidade	**03**
4.5	Critérios de rejeição	**03**
5.	**Responsabilidades**	**03**
6.	**Materiais e Reagentes**	**04**
7.	**Equipamentos**	**04**
8.	**Procedimentos**	**04**
9.	**Resultados**	**04**
9.1	Valores de Referência	**04**
9.2	Cálculos	**05**
9.3	Interpretação Clínica	**05**
9.4	Valores Críticos	**05**
10.	**Registros**	**05**
11.	**Controle de Qualidade**	**05**
12.	**Notas adicionais**	**05**
13.	**Referências Bibliográficas**	**05**

Liliane Linhares de Oliveira
Farmacêutica-Bioquímica
CRF-MG

Vanessa Caroline R. Magalhães
Farmacêutica-Bioquímica
CRF-MG 15069
MASP 1281714-4 - HEM/FHEMIG

Revisado por: Vanessa C.R. Magalhães	Verificado por: Liliane Linhares de Oliveira	Aprovado por: Vanessa C.R. Magalhães	Versão 3
Data: 24/08/2018	Data: 28/06/2018	Data: 01/09/2018	

CONTROLE HISTÓRICO						
REVISÃO	**DATA**	**Nº PÁGINAS**	**HISTÓRICO ALTERAÇÃO**	**ELABORAÇÃO**	**VERIFICAÇÃO**	**APROVAÇÃO**
00	11/11/2009	02	Emissão inicial	Hyllo Baeta Marcello Júnior	Hyllo Baeta Marcello Júnior	Hyllo Baeta Marcello Júnior
01	01/07/2014	02	Revisão	Hyllo Baeta Marcello Júnior	Hyllo Baeta Marcello Júnior	Hyllo Baeta Marcello Júnior
02	25/08/18	06	Revisão	Vanessa C.R. Magalhães	Liliane Linhares de Oliveira	Vanessa C.R. Magalhães

1. Sinonímia e Símbolos

Mycobacterium leprae – bacilo de Hansen

2. Indicação Médica

A coloração de Ziehl-Neelsen é utilizada para identificação de microorganismos resistentes à descoloração por álcool-ácido. É utilizada basicamente para detecção de micobactérias em amostras clínicas de pacientes.

3. Princípio e Método

3.1 Princípio

A coloração de Ziehl-Neelsen baseia-se na capacidade de algumas bactérias (micobactérias) resistirem aos métodos comuns de coloração devido à composição altamente lipídica da parede celular. Uma vez coradas pela fucsina, não sofrem ação de descorantes fortes, como a solução de álcool-ácido. O método de coloração a frio é o recomendado por preservar as condições morfotintoriais do bacilo. Desta forma, a fucsina de Ziehl cora todas as bactérias de vermelho, e após a descoloração com álcool-ácido, somente os bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) conservarão esta cor. Para facilitar a

visualização cora-se o fundo com azul de metileno, estabelecendo-se um contraste nítido entre elementos celulares e outras bactérias (azuis) e os BAAR (vermelhos).

3.2 Método

Ziehl-Neelsen a frio.

4. Amostra

4.1 Tipo de amostras

Lâminas com raspado intradérmico de lesão, lóbulos das orelhas e cotovelos

4.2 Preparo do Paciente

Não se aplica.

4.3 Coleta e armazenamento

Ver POP-MICO-001.

4.4 Estabilidade

A estabilidade da lâmina corada é de um ano e da lâmina sem corar é de sete dias se armazenada adequadamente.

4.5 Critérios de Rejeição

Quando ocorrer desprendimento do esfregaço que pode ocorrer devido a não fixação do esfregaço em chama ou a presença abundante de linfa.

5. Responsabilidades

- ✓ Técnicos de laboratório
- ✓ Farmacêuticos-Bioquímicos

6. Materiais e Reagentes

- ✓ Suporte para coloração de lâminas
- ✓ Fucsina de Ziehl-Neelsen
- ✓ Água corrente

- ✓ Solução de álcool-ácido a 1% (37)
- ✓ Azul de metileno a 0,3%

7. Equipamentos

Utilizar os equipamentos de proteção individual: luvas, avental, máscara N95 e óculos.

8. Procedimentos

1. Colocar as lâminas em suporte apropriado, separadamente uma da outra.
2. Cobrir todo o esfregaço com a solução de fucsina de Ziehl-Neelsen, previamente filtrada, durante 20 minutos.
3. Retirar a lâmina do suporte e lavar em água corrente sob baixa pressão.
4. Descorar os esfregaços até tomar uma coloração rosada com solução de álcool-ácido a 1%.
5. Lavar novamente a lâmina em água corrente sob baixa pressão.
6. Cobrir todo o esfregaço com solução de azul de metileno a 0,3% por 1 minuto.
7. Lavá-la em água corrente sob baixa pressão e deixar secar a temperatura ambiente.
8. Acondicionar as lâminas coradas na grade de lâminas à examinar junto com os pedidos médicos.

9. Resultados

9.1 Valores de Referência

Negativo.

9.2 Cálculos

Não se aplica.

9.3 Interpretação Clínica

Não se aplica.

9.4 Valores Críticos

Não se aplica.

10. Registros

Caso ocorra alguma intercorrência no processo de coloração, registrar no caderno de ocorrência do setor e comunicar ao responsável do setor.

11. Controle de Qualidade

É realizado coloração de amostra de Lâmina BAAR positiva fornecido pela PNCQ, para verificar se a coloração está de acordo com o esperado.

12. Notas adicionais

Utilizar os corante dentro dos prazos de validade especificados pelo fabricante.

13. Referências Bibliográficas

- ✓ Atualização em baciloscopia de hanseníase – Secretaria de Estado da Saúde – Governo do Estado de Minas Gerais, 2005.
- ✓ Baciloscopia em Hanseníase – Ministério da Saúde – Brasília, 2010.

H. POP-MIC0-003: COLORAÇÃO DE EXAME DIRETO PARA LEISHMANIOSES- GIEMSA- PANÓTICO.

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICO-03 Versão: 01
Coloração de Exame Direto para Leishmanioses – Giemsa/ Panótico	Setor: Micologia Folha 1 de 8

SUMÁRIO

1.	**Sinonímia e Símbolos**	**02**
2.	**Indicação médica**	**02**
3.	**Princípio e Método**	**02**
3.1	Princípio	**02**
3.2	Método	**02**
4.	**Amostra**	**03**
4.1	Tipo de Amostras	**03**
4.2	Preparo do paciente	**03**
4.3	Coleta e armazenamento	**03**
4.4	Estabilidade	**03**
4.5	Critérios de rejeição	**03**
5.	**Responsabilidades**	**04**
6.	**Materiais e Reagentes**	**04**
7.	**Equipamentos**	**04**
8.	**Procedimentos**	**04**
8.1	Entrada de amostras	**04**
8.2	Coloração Giemsa	**05**
8.3	Preparo da visualização das lâminas coradas	**05**
9.	**Resultados**	**07**
9.1	Valores de Referência	**07**
9.2	Cálculos	**07**
9.3	Interpretação Clínica	**07**
9.4	Valores Críticos	**07**
10.	**Registros**	**07**
11.	**Controle de Qualidade**	**07**
12.	**Notas adicionais**	**07**
13.	**Referências Bibliográficas**	**08**

Elaborado por:	Verificado por:	Aprovado por:	Versão
Vanessa C. Magalhães	Tânia O. Batista Farmacêutica Bioquímica CRF-MG 23.132 MASP 1343867-6	Vanessa C. Magalhães	01
Data:05/08/2018	Data: 18/10/2018	Data: 28/02/2019	

CONTROLE HISTÓRICO

REVISÃO	DATA	Nº PÁGINAS	HISTÓRICO ALTERAÇÃO	ELABORAÇÃO	VERIFICAÇÃO	APROVAÇÃO
00	28/02/19	8	Emissão inicial	Vanessa C. R. Magalhães	Tânia O. Batista	Vanessa C. R. Magalhães

1. Sinonímia e Símbolos

CRL: Centro de Referência em Leishmaniose

IRR: Instituto René Rachou

GAL: Gerenciador de Ambiente Laboratorial

Pesquisa de *Leishmania* spp.

2. Indicação Médica

A leishmaniose é uma moléstia infecciosa, considerada primariamente uma zoonose, que afeta os animais, sobretudo os cães, só acometendo o homem quando este entra acidentalmente no ciclo de transmissão do parasita.
A doença tem como causa protozoários do gênero *Leishmania*, que são transmitidos ao homem pela picada de insetos chamados flebotomíneos. Esse vetor, que costuma atacar no início da noite e ao amanhecer, carrega o parasita ao picar animais infectados. O diagnóstico definitivo pode ser feito a partir da pesquisa direta do parasita na lesão, em material obtido por raspado, punção ou biópsia. Este exame parasitológico direto é o método de primeira escolha, por ser o mais rápido, de menor custo e de fácil execução.
A coloração de lâminas pelo reagente Giemsa ou Panótico permite a visualização de parasitos utilizando-se microscópio ótico.

3. Princípio e Método

3.1 Princípio

Certos tipos celulares apresentam estruturas, tanto nucleares como citoplasmáticas, com afinidade por corantes ácidos, básicos ou ambos, o que lhe confere a característica de neutralidade. Em condições adequadas, essa coloração permite que em um minuto se core os componentes nucleares e citoplasmáticos em tons de vermelho quando o pH é ácido e em tons azulados quando o pH é básico.

3.2 Método

Confecção manual de esfregaço em lâmina por aposição – imprint, esfregaços de esclarificação e esfregaços de punção de medula óssea coradas pelo método Giemsa ou Panótico.

4. Amostra

4.1 Tipos de amostras

Aspirado de Medula Óssea, sangue, aspirados de linfonodos, secreção cutânea, "imprints" de tecidos obtidos por biópsia, líquor e outros líquidos corporais.

4.2 Preparo do Paciente

Não se aplica.

4.3 Coleta e armazenamento

Não se aplica.

4.4 Estabilidade

A lâmina corada deve ser conservada em local fresco, seco e protegido contra incidência direta de luz solar.

4.5 Critérios de Rejeição

Não se aplica.

5. Responsabilidades

Técnicos em patologia clínica e farmacêuticos-bioquímicos.

6. Materiais e Reagentes

GIEMSA:
- Reagente Giemsa diluído na proporção de 2 gotas do Giemsa concentrado para cada 1 mL de água tipo I ou II – preparar de acordo com a quantidade de lâminas a serem coradas;
- Água tipo I ou II;
- Lâminas;
- Suporte de alumínio;
- Metanol

PANÓTICO:
- Frascos para coloração:
  - Frasco 1: solução de triarilmetano a 0,1%;
  - Frasco 2: solução de xatenos a 0,1%;
- Frasco 3: Solução de tiazinas a 0,1%.

7. Equipamentos

- Microscópio;
- Cronômetro.

8. Procedimentos

8.1 Entrada de amostras

Registrar a entrada do material biológico (conforme ítem 4.1 deste POP) no Caderno de Pesquisa para Leishmania. Identificar as lâminas com:

- Nome completo do paciente;
- Data e hora da confecção e/ou recebimento da lâmina;
- Número do registro.

8.2 Coloração Giemsa

- Confeccionar os esfregaços usando lâminas limpas e desengorduradas. Deixar que os esfregaços sequem naturalmente;
- Colocar as lâminas no suporte de alumínio;
- Cobrir as lâminas com metanol para fixação, deixando que ele evapore;
- Cobrir as lâminas com o Reagente Giemsa diluido;
- Deixar o reagente sobre as lâminas por 20 minutos (uma variação de ± 5 minutos é aceitável)
- Escorrer, lavar a lâmina suavemente em água corrente e deixar secar em posição vertical.
- Observar ao microscópio.

8.3 Coloração Panótico

- Confeccionar os esfregaços usando lâminas limpas e desengorduradas.
- Deixar que os esfregaços sequem naturalmente;
- Colocar as lâminas no suporte de alumínio;
- Fixar o material do esfregaço passando 3 a 4 vezes na chama.
- Fixar o esfregaço por 30 segundos na solução do frasco 1.

Escorrer sem lavar.

- Corar o esfregaço na solução do frasco 2 por ~~30~~ 60 segundos.
- Escorrer sem lavar.
- Corar o esfregaço por ~~30~~ 120 segundos na solução do frasco 3.
- Escorrer, lavar a lâmina em água corrente e deixar secar em posição vertical.
- Observar ao microscópio.

8.4 Preparo da visualização das lâminas coradas:

Tânia de Oliveira Batista
Farmacêutica Bioquímica
CRF-MG 23.132 MASP 1343867-6
Laboratório de Análises Clínicas HEM/IC

1 - Colocar a lâmina no microscópio e com a objetiva de 10x percorrer toda a lâmina verificando:

- A qualidade do esfregaço:

Satisfatório/Regular - material rico em linfa, com infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear, células uniformemente distribuídas, sem esmagamentos, material sem contaminações);
Insatisfatório/Irregular - Presença excessiva de sangue que dilui o material; presença excessiva de leucócitos (principalmente neutrófilos que é indicativo de contaminação bacteriana); fundo sujo e com presença de bactérias ou fungos.

- A qualidade da coloração:

Adequada/Regular - As células apresentam contorno nítido e distinção adequada do contorno celular, do citoplasma e do núcleo. O citoplasma apresenta coloração azulada ou rosa pálido e as estruturas nucleares coram-se em tons violetas.As amastigotas, quando presentes, apresentam núcleo, cinetoplasto e citoplasma bem definidos: citoplasma azul-pálido e núcleo e cinetoplasto com coloração violeta.

Inadequada/Irregular: coloração forte, as estruturas morfológicas ficam com uma coloração azul intenso, atrapalhando a visualização; coloração fraca, com estruturas morfológicas avermelhadas dificultando a observação do citoplasma, núcleo e cinetoplasto do parasito, quando estes estão presentes.

2 - Mudar para a objetiva de 40x e observar aspectos celulares em maior detalhe como presença de células esmagadas e deformadas que sugerem pressão escessiva durante a confecção dos esfregaços (especialmente em esfregaços de esclarificação e punção de medula óssea). Observar a representatividade celular (infiltrado mononuclear, com menos de 10% de neutrófilos e pouco sangue). Percorrer toda a lâmina para definir as melhores áreas para iniciar a imersão. As áreas ideais correspondem àquelas onde se

Tânia de Oliveira Batista
Farmacêutica Bioquímica
CRF-MG 23.132 MASP 1343967-6
Laboratório HEM Rede FHEMIG

observa coloração adequada, com fundo limpo e células uniformemente distribuidas.

3 - Colocar uma gota de óleo de imersão e mudar para a objetiva de 100x. Ajustar o foco com o macrométrico e o micrométrico e iniciar a pesquisa de formas amastigotas de *Leishmania* spp.

9. Resultados

9.1 Valores de Referência

Negativo e para ser validado é necessário percorrer toda a lâmina.

9.2 Cálculos

Não se aplica.

9.3 Interpretação Clínica

Resultado positivo para *Leishmania* sp.: formas amastigotas que são células com citoplasma acidófilo com núcleo e cinetoplasto basófilo. A vizualização do cinetoplasto é importante para confirmar leishmaniose.

9.4 Valores Críticos

Resultados positivos para *Leishmania* spp devem ser comunicados.

10. Registros

A comunicação de resultados críticos deve ser registrada no caderno de resultados críticos do setor.

11. Controle de Qualidade

Tem a finalidade de verificar a qualidade dos corantes e a metodologia. Realizada no Rene Rachou, mensalmente, com o envio de uma lâmina de um

paciente aleatório de pesquisa de Leishmania, corada e com resultado conhecido; juntamente com um formulário preenchido, presente na pasta de Controle de Qualidade.

12. Notas adicionais

Não se aplica.

13. Referências Bibliográficas

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 2. ed. atual., 3. reimpr. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2013. 180 p. : il.

I. POP-MICO-004: BACILOSCOPIA EM HANSENÍASE – ÍNDICE BACILOSCÓPICO (IB).

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICO-004 Versão: 04
Baciloscopia em hanseníase – Índice baciloscópico (IB)	Setor:Micologia Folha 1 de 7

SUMÁRIO

1.	**Sinonímia e Símbolos**	**02**
2.	**Indicação médica**	**02**
3.	**Princípio e Método**	**02**
3.1	Princípio	**02**
3.2	Método	**02**
4.	**Amostra**	**02**
4.1	Tipo de Amostras	**02**
4.2	Preparo do paciente	**03**
4.3	Coleta e armazenamento	**03**
4.4	Estabilidade	**03**
4.5	Critérios de rejeição	**03**
5.	**Responsabilidades**	**03**
6.	**Materiais e Reagentes**	**03**
7.	**Equipamentos**	**03**
8.	**Procedimentos**	**03**
9.	**Resultados**	**04**
9.1	Valores de Referência	**04**
9.2	Cálculos	**04**
9.3	Interpretação Clínica	**04**
9.4	Valores Críticos	**04**
10.	**Registros**	**05**
11.	**Controle de Qualidade**	**05**
12.	**Notas adicionais**	**05**
13.	**Referências Bibliográficas**	**05**

Revisado por: Vanessa C. R Magalhães	Verificado por: Liliane Linhares	Aprovado por: Vanessa C. R. Magalhães	Versão 4
Data: 28/02/2019	Data:29/02/2019	Data:29/02/2019	

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICO-004 Versão: 04
Baciloscopia em hanseníase – Índice baciloscópico (IB)	Setor:Micologia Folha 2 de 7

CONTROLE HISTÓRICO

REVISÃO	DATA	Nº PÁGINAS	HISTÓRICO ALTERAÇÃO	ELABORAÇÃO	VERIFICAÇÃO	APROVAÇÃO
00	11/11/2009	02	Emissão inicial	Hyllo Baeta Marcello Júnior	Hyllo Baeta Marcello Júnior	Hyllo Baeta Marcello Júnior
01	01/07/2014	02	Revisão	Hyllo Baeta Marcello Júnior	Hyllo Baeta Marcello Júnior	Hyllo Baeta Marcello Júnior
02	25/07/2016	06	Revisão	Hyllo Baeta Marcello Júnior	Tatiane Maria da Silva	Hyllo Baeta Marcello Júnior
3	28/02/19	7	Interpretação Clínica	Hyllo Baeta Marcello Júnior	Vanessa C. R. Magalhães	Vanessa C. R. Magalhães

1. Sinonímia e Símbolos

IB: Índice Baciloscópico

2. Indicação Médica

O diagnóstico laboratorial da hanseníase é importante para auxiliar no diagnóstico diferencial com outras doenças dermatoneurológicas, casos suspeitos de recidiva e na classificação para fins de tratamento. Nestes casos, o exame baciloscópico do raspado intradérmico (baciloscopia) é o método comumente utilizado por ser de fácil execução, pouco invasivo e de baixo custo.

3. Princípio e Método

3.1 Princípio

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

3.2 Método

Liliane Linhares de Oliveira Farmacêutica/Bioquímica CRF/MG: 34694 - Matr. 146272?? HFM-FHEMIG

Microscopia.

4. Amostra

4.1 Tipo de amostras

Raspado intradérmico dérmico de lesão, lóbulos das orelhas e cotovelos.

4.2 Preparo do Paciente

Não se aplica.

4.3 Coleta e armazenamento

Ver POP-MICO-001.

4.4 Estabilidade

As lâminas coradas devem ser olhadas o mais breve possível. Para revisão de lâminas, a estabilidade da lâmina é de 1 ano.

4. Critérios de Rejeição

Serão rejeitadas as lâminas em que o esfregaço contenham muitas hemácias; a descoloração esteja pouco eficiente e o esfregaço não seja representativo.

5. Responsabilidades

- ✓ Técnicos de laboratório
- ✓ Farmacêuticos-Bioquímicos

6. Materiais e Reagentes

- ✓ Óleo de imersão
- ✓ Microscópio óptico

- ✓ Escala de Ridley

7. Equipamentos

Microscópio.

8. Procedimentos

1) Examinar inicialmente com objetivas de pequeno aumento (10x) a fim de selecionar campos que contenham muitos macrófagos e evitar aqueles com hemácias.
2) Pingar uma gota de óleo de imersão e então, passar para objetiva de imersão (100x), ajustando o foco com o auxílio do micrométrico.
3) Começar a examinar o esfregaço na porção superior ou inferior conforme, sistematicamente, em zig-zag em 100 campos representativos. Se não forem encontrados bacilos ou a quantidade encontradas for pequena, analisar todo o material.
4) Contar todos os bacilos isolados que forem observados em cada campo microscópico. Os bacilos aglomerados e os contidos em globias não podem ser contados, porém, o seu número deve ser estimado, de acordo com o esquema abaixo:

Globia Pequena - Apresenta em média 30 bacilos em seu corpo.
Globia Média - Apresenta em média 60 bacilos em seu corpo.
Globia Grande - Apresenta em média 100 bacilos em seu corpo.

5) Classificar os esfregaços utilizando a escala logarítmica de Ridley (vide anexo I).

Liliane Linhares de Oliveira Farmacêutica/Bioquímica CRF-MG 34694 - Matr. 1452720 HEM-FHEMIG

6) Observar o aspecto morfológico dos do *M. Leprae* presentes nos esfregaços, classificando-os em bacilo íntegros, fragmentados ou granulosos.
7) Após a análise da lâmina, calcular IB de cada sítio coletado conforme descrito no item 9.2.

9. Resultados

9.1 Valores de Referência

Ausência de bacilos em 100 campos examinados por sítio (IB=0).

9. Cálculos

O IB do paciente é calculado pela média aritmética dos IBs de cada sítio analisado, utilizando-se a fórmula IB=média/4.

9.3 Interpretação Clínica

Hanseníase forma indeterminada – MHI – baciloscopia raspado dérmico negativa

Hanseníase forma tuberculóide – MHT- baciloscopia raspado dérmico negativa

Hanseníase forma dimorfa – MHD- baciloscopia raspado dérmico negativa ou positiva. DD= 0,1 a 2,0 e DV= 2,1 a 3,4.

Hanseníase forma virchowiana- MHV - baciloscopia raspado dérmico positiva.

V= maior 3,5

9.4 Valores Críticos

Não se aplica.

10. Registros

A etiqueta gerada pelo sistema Liga durante o atendimento do paciente deve ser colada no pedido médico, que deve também ser assinado e datado por quem realizou a coleta. O responsável pela coleta deve também carimbar o pedido médico com o carimbo onde o resultado será registrado para posterior lançamento no sistema Liga. Em seguida o pedido médico é arquivado como dado bruto.

11. Controle de Qualidade

É realizado apenas o controle de qualidade do corante.

12. Notas adicionais

Escala Logarítmica de Ridley

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

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

(2+) – Presença de 1 a 10 bacilos, em cada 10 campos examinados. (11 a 100)

(3+) – Presença de 1 a 10 bacilos, em média, em cada campo examinado.

(4+) – Presença de 10 a 100 bacilos, em média, em cada campo examinado.

(5+) – Presença de 100 a 1.000 bacilos, em média, em cada campo examinado.

(6+) – Presença de mais de 1.000 bacilos, em média, em cada campo examinado.

13. Referências Bibliográficas

- ✓ Atualização em baciloscopia de hanseníase – Secretaria de Estado da Saúde – Governo do Estado de Minas Gerais, 2005.
- ✓ Baciloscopia em Hanseníase – Ministério da Saúde – Brasília, 2010.

Liliane Linhares de Oliveira Farmacêutica/Bioquímica CRF/MG 24694 - Mat. 1462720 FHEMIG

J. POP-MICO-005: FLUXO DE ANATOMOPATOLÓGICO

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICO-05 Versão: 01
Fluxo de anatomopatológicos	Setor: Micologia Folha 1 de 5

SUMÁRIO

1.	**Sinonímia e Símbolos**	**02**
2.	**Indicação médica**	**02**
3.	**Princípio e Método**	**02**
3.1	Princípio	**02**
3.2	Método	**02**
4.	**Amostra**	**02**
4.1	Tipo de Amostras	**02**
4.2	Preparo do paciente	**02**
4.3	Coleta e armazenamento	**02**
4.4	Estabilidade	**02**
4.5	Critérios de rejeição	**03**
5.	**Responsabilidades**	**03**
6.	**Materiais e Reagentes**	**03**
7.	**Equipamentos**	**03**
8.	**Procedimentos**	**03**
8.1	Conferência Requisição Médica	**03**
8.2	Conferência Identificação da Amostra	**03**
8.3	Conferência do Livro de enfermagem	**03**
8.4	Rejeição de Amostras	**04**
8.5	Registro de Dados	**04**
8.7	Armazenamento das Amostras	**04**
8.8	Encaminhamento das Amostras	**04**
9.	**Resultados**	**05**
9.1	Valores de Referência	**05**
9.2	Cálculos	**05**
9.3	Interpretação Clínica	**05**
9.4	Valores Críticos	**05**
10.	**Registros**	**05**
11.	**Controle de Qualidade**	**05**
12.	**Notas adicionais**	**05**
13.	**Referências Bibliográficas**	**05**

Elaboração:	Revisado por:	Aprovado por:	Próxima revisão	Versão
Vanessa Magalhães Data: 15/08/2019	Lucina Naonésia de Oliveira Data: 19/08/2019	Tayrine Araújo e Macia Gregory Data: 20/08/2019	08/2021	01

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICO-05 Versão: 01
Fluxo de anatomopatológicos	Setor: Micologia Folha 2 de 5

CONTROLE HISTÓRICO						
REVISÃO	**DATA**	**Nº PÁGINAS**	**HISTÓRICO ALTERAÇÃO**	**ELABORAÇÃO**	**VERIFICAÇÃO**	**APROVAÇÃO**
00	15/08/2019	05	Emissão inicial	Vanessa Magalhães	Lucina Naonésia de Oliveira	Tayrine Araújo e Mácia Gregory

1. Sinonímia e Símbolos

POP – Procedimento Operacional Padrão
HEM- Hospital Eduardo de Menezes

2. Indicação Médica

Não se aplica.

3. Princípio e Método

Este POP visa fornecer informações sobre o recebimento, registro, armazenamento e encaminhamento de amostras para exames anatomopatológicos e citológicos para laboratório de apoio.

4. Amostra

- Aspirado de Medula Óssea;
- Fragmentos de biópsias, tecidos;
- Lavado brônquico ou lavado bronco-alveolar;
- Líquidos orgânicos, ou Líquidos biológicos (líquor, líquido pleural, líquido ascítico, líquido peritoneal).
- Lâminas de citologia vaginal

5. Responsabilidades

Técnicos de patologia clínica, enfermeiros, médicos e farmacêuticos-bioquímicos.

6. Materiais e Reagentes

Não se aplica.

7. Equipamentos

Não se aplica.

8. Procedimentos

8.1 Conferência Requisição Médica

Conferir o pedido médico observando os itens abaixo:
. Identificação do paciente: nome completo, número de prontuário e registro
. Local de internação/ setor
. Data de solicitação
. Identificação da amostra: sítio de coleta e tipo de amostra
. Número do frasco de coleta.
.Conferir o preenchimento correto da requisição do laboratório de apoio.

OBS: Para cada frasco deverá ter o seu número e a especificação da amostra.

8.2 Conferência Identificação da Amostra

A amostra deverá estar identificada com o nome do paciente, o número de registro do paciente, data da coleta, horário da coleta e responsável pelo procedimento. Conferir a amostra biológica dentro das bandejas.

8.3 Conferência do Livro de enfermagem

Conferir se o nome e o número do frasco do caderno de enfermagem são os mesmos do frasco e do pedido médico.

8.4 Rejeição de Amostras

Amostras identificadas incorretamente.
Amostras com identificações diferentes do frasco com o pedido médico.
Amostras com pedidos médicos sem número do frasco.
Amostras com pedido médico contendo quantidades diferentes de amostras (frascos).
Amostras com pedido médico sem especificar o local de coleta.
Amostras sem material visível no frasco.
Amostras conservadas inadequadamente.
Amostras sem a requisição do laboratório de apoio.

OBS: Não cabe ao laboratório consertar ou acrescentar os pedidos médicos.

8.5 Registro dos Dados

Registrar os dados do pedido médico nos cadernos do setor. Data, nome paciente (civil e social), prontuário, número do frasco, amostra e exame.

8.7 Armazenamento das Amostras

As amostras registradas deverão ser armazenadas à temperatura ambiente nas caixas de plásticos ou na porta da geladeira da micologia. Conforme tabela abaixo:

Exame	Conservante	Armazenamento
Anatomopatológico	formol	Temperatura ambiente
Cervicovaginal	álcool	Temperatura ambiente
Citologia de líquidos	álcool	refrigerada

8.8 Encaminhamento das Amostras

As amostras serão entregues para o transporte do laboratório de apoio. O mesmo deverá conferir e assinar o caderno do setor.

9. Resultados

Os resultados dos exames deverão ser impressos do site. Em seguida dar baixa no caderno de envio e enviar o resultado para o prontuário do paciente, através da secretaria do laboratório.

10. Registros

Cadernos do setor.

11. Controle de Qualidade

Não se aplica.

12. Notas adicionais

Será estipulado um horário para entrega de materiais do ambulatório e bloco cirúrgico os deverão ser entregues na micologia.

Os materiais das alas serão entregues preferencialmente na micologia. Caso não tenha funcionário no setor a distribuição e a microbiologia poderão receber, seguindo o presente POP.

13. Referências Bibliográficas

Fluxo estabelecido por funcionários do setor.

K. POP-MICO-06: FLUXO REVISÃO DE LÂMINA

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICO-06 Versão: 01
Fluxo Revisão de Lâmina	Setor: Micologia Folha 1 de 5

SUMÁRIO

1.	**Sinonímia e Símbolos**	**02**
2.	**Indicação médica**	**02**
3.	**Princípio e Método**	**02**
3.1	Princípio	**02**
3.2	Método	**02**
4.	**Amostra**	**02**
4.1	Tipo de Amostras	**02**
4.2	Preparo do paciente	**02**
4.3	Coleta e armazenamento	**02**
4.4	Estabilidade	**02**
4.5	Critérios de rejeição	**02**
5.	**Responsabilidades**	**02**
6.	**Materiais e Reagentes**	**03**
7.	**Equipamentos**	**03**
8.	**Procedimentos**	**03**
8.1.1	Revisão de lâminas de laboratório com contrato	**03**
8.1.2	Registro dos pedidos de laboratório com contrato	**03**
8.1.3	Recebimento da lâmina do laboratório com contrato	**03**
8.1.4	Encaminhamento para a Revisão	**03**
8.1.5	Recebimento dos resultados	**04**
8.2.1	Revisão de lâminas de laboratório sem contrato	**04**
8.2.2	Registro dos pedidos de laboratório sem contrato	**04**
8.2.3	Encaminhamento para a Revisão	**04**
8.2.4	Recebimento dos resultados	**04**
9.	**Resultados**	**05**
9.1	Valores de Referência	**05**
9.2	Cálculos	**05**
9.3	Interpretação Clínica	**05**
9.4	Valores Críticos	**05**
10.	**Registros**	**05**
11.	**Controle de Qualidade**	**05**

Elaboração:	Revisado por:	Aprovado por:	Próxima revisão 08/2021	Versão 01
Vanessa Magalhães	Lucina Naonésia de Oliveira	Tayrine Araújo e Mácia Gregory		
Data: 15/08/2019	Data: 19/08/2019	Data: 21/08/2019		

12. Notas adicionais **05**
13. Referências Bibliográficas **05**

CONTROLE HISTÓRICO

REVISÃO	DATA	Nº PÁGINAS	HISTÓRICO ALTERAÇÃO	ELABORAÇÃO	VERIFICAÇÃO	APROVAÇÃO
00	15/08/2019	05	Emissão inicial	Vanessa Magalhães	Lucina Naonésia de Oliveira	Tayrine Araújo e Mácia Gregory

1. Sinonímia e Símbolos

POP – Procedimento Operacional Padrão
HEM- Hospital Eduardo de Menezes

2. Indicação Médica

Não se aplica.

3. Princípio e Método

Este POP visa fornecer informações sobre o recebimento, registro e encaminhamento de pedidos de revisão de lâminas para o laboratório de apoio.
Recebimento, registro e encaminhamento de lâminas de revisão para o laboratório de revisão.
Devoluções de lâminas para paciente e laboratório de apoio.

4. Amostra

Lâminas e blocos de parafina

5. Responsabilidades

Técnicos de patologia clínica, enfermeiros, médicos e farmacêuticos-bioquímicos.

6. Materiais e Reagentes

Não se aplica.

7. Equipamentos

Não se aplica.

8. Procedimentos

8.1.1 Revisão de lâminas de laboratório com contrato
.Receber 02 pedidos médicos do SIGH (um para o apoio e outro para dr. Moisés).
.Conferir a identificação do paciente: nome completo, número de prontuário e registro.
.O pedido deve ter as especificações da lâmina (nº atendimento, data exame, nº lâmina).
.O pedido deve ter o motivo da revisão.

8.1.2 Registro dos pedidos de laboratório com contrato
.Registrar o pedido no caderno de revisão.
.Numerar os dois pedidos com o número da seqüência do caderno.
.Guardar o pedido de revisão na pasta (PEDIDOS REVISÃO DR. MOISÉS) para aguardar a lâmina.
.Entregar o pedido para o laboratório de apoio, o qual deverá assinar o caderno.

8.1.3 Recebimento da lâmina do laboratório com contrato
.Conferir e assinar o protocolo de empréstimo.
.Guardar o protocolo de empréstimo na pasta.

.Assinar no caderno de lâmina o recebimento das lâminas.

8.1.4 Encaminhamento para a Revisão
Colocar a lâmina junto com o pedido de revisão Dr. Moisés que estará guardado na pasta.
Deixar no armário para o dr. Moisés levar.

8.1.5 Recebimento dos resultados
. Os resultados recebidos deverão ser xerocados 2 vias. O resultado original deverá ser enviado para o prontuário do paciente e o xerox arquivado na pasta de dados brutos de revisão.
. As lâminas deverão ser devolvidas para o laboratório contrato junto com o resultado de revisão. Devolver as lâminas em uma lista em 02 vias, que deverá ser assinada pelo laboratório.
~~. Guardar a via na pasta de protocolos e grampear os protocolos com a lista.~~

8.2.1 Revisão de lâminas de laboratório sem contrato
. Orientar o paciente a buscar a lâmina no laboratório de procedência do exame e em seguida nos entregar a lâmina junto com o pedido de revisão.
. Receber a lâmina junto com o pedido de revisão do SIGH.
. Entregar o protocolo para o paciente buscar a lâmina. Preencher o protocolo com o número da lâmina, a data de entrega no laboratório e assinar legível.
. Orientar o paciente a buscar a lâmina e resultado no laboratório no dia da consulta, 1 hora antes.

8.2.2 Registro dos pedidos de laboratório sem contrato
. Registrar no caderno e colocar na observação "Paciente trouxe lâmina".

8.2.3 Encaminhamento para a Revisão
.Colocar a lâmina junto com o pedido de revisão.
.Deixar no armário para o dr. Moisés.

8.2.4 Recebimento dos resultados
. Os resultados recebidos deverão ser xerocados 3 vias. O resultado original deverá ser enviado para o prontuário do paciente, após ele buscar a lâmina,

controlar pelo caderno de protocolo. O xerox do resultado deverá ser arquivado na pasta de dados brutos de revisão.
. As lâminas deverão ser devolvidas para o paciente junto com o resultado (xerox) de revisão.
. Guardar as lâminas na caixa.
. Devolver a lâmina para o paciente junto com o caderno de protocolo de devolução de lâmina para o paciente assinar.

9. Resultados

Não se aplica.

10. Registros

Cadernos do setor.

11. Controle de Qualidade

Não se aplica.

12. Notas adicionais

Não se aplica. O prazo para entrega das lâminas pelas cytopneses são de 05 dias úteis

13. Referências Bibliográficas

Fluxo estabelecido por funcionários do setor. Após este prazo, verificar com o laboratório o atraso.

Vanessa Caroline R. Magalhães
Farmacêutica-Bioquímica
CRF-MG 19209
MASP 1287[illegible]

[illegible]

L. POP-MICO-007: COLETA DE RASPADO DÉRMICO.

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICO-007 Versão: 03
Coleta de Raspado Dérmico	Setor: Micologia Folha 1 de 5

SUMÁRIO

1.	**Sinonímia e Símbolos**	**2**
2.	**Indicação médica**	**2**
3.	**Princípio e Método**	**2**
3.1	Princípio	**2**
3.2	Método	**2**
4.	**Amostra**	**2**
4.1	Tipo de Amostras	**2**
4.2	Preparo do paciente	**3**
4.3	Coleta e armazenamento	**3**
4.4	Estabilidade	**3**
4.5	Critérios de rejeição	**3**
5.	**Responsabilidades**	**3**
6.	**Materiais e Reagentes**	**3**
7.	**Equipamentos**	**4**
8.	**Procedimentos**	**4**
9.	**Resultados**	**5**
9.1	Valores de Referência	**5**
9.2	Cálculos	**5**
9.3	Interpretação Clínica	**5**
9.4	Valores Críticos	**5**
10.	**Registros**	**5**
11.	**Controle de Qualidade**	**5**
12.	**Notas adicionais**	**5**
13.	**Referências Bibliográficas**	**6**

CONTROLE HISTÓRICO						
REVISÃO	**DATA**	**Nº PÁGINAS**	**HISTÓRICO ALTERAÇÃO**	**ELABORAÇÃO**	**VERIFICAÇÃO**	**APROVAÇÃO**
00	11/11/2009	02	Emissão inicial	Hyllo Baeta Marcello Júnior	Hyllo Baeta Marcello Júnior	Hyllo Baeta Marcello Júnior
01	01/07/2014	02	Revisão	Hyllo Baeta Marcello Júnior	Hyllo Baeta Marcello Júnior	Hyllo Baeta Marcello Júnior
02	25/08/19	05	Revisão	Hyllo Baeta Marcello Júnior	Liliane Linhares de Oliveira	Vanessa C. R. Magalhães

1. Sinonímia e Símbolos

2. Indicação Médica

Estabelecer ou confirmar o diagnóstico de uma infecção fúngica.

3. Princípio e Método

3.1 Princípio

Descrever o procedimento de coleta de material biológico para a realização do exame micológico direto e cultura para fungos.

3.2 Método

Raspado dérmico.

4. Amostra

4.1 Tipo de amostras

Escamas, pelos, unhas, secreção, pus, crostas, grãos.

4.2 Preparo do Paciente

Assepsia com álcool 70% no algodão.

Liliane Linhares de Oliveira Farmacêutica Bioquímica CRF-MG 34639 Matr. 1462725 HEM-FHEMIG

4.3 Coleta e armazenamento

- Conferir o pedido médico com o nome do paciente;
- Imprimir etiquetas,
- Separar os materias necessários,
- Identificar os frascos de coleta com etiquetas,
- Sentar o paciente e fazer uma breve explicação sobre a coleta a ser realizada;
- Selecionar os sítios de coleta e realizar a assepsia com algodão embebido com álcool 70%, caso necessário;
- Calçar luvas e realizar os procedimentos descritos.

4.4 Estabilidade

A estabilidade das amostras no frasco a temperatura ambiente é de três meses.

4.5 Critérios de Rejeição

Amostras não identificadas.

5. Responsabilidades

- ✓ Técnicos de laboratório
- ✓ Farmacêuticos-Bioquímicos

6. Materiais e Reagentes

- ✓ Frasco estéril
- ✓ Álcool 70°GL ou 70%;
- ✓ Gaze não estéril;
- ✓ Lâmina de bisturi nº 20;
- ✓ Luvas de procedimento;
- ✓ Máscara;

- ✓ Pinças,
- ✓ Hollemback
- ✓ Curetas
- ✓ Descarpack.

7. Equipamentos

Utilizar os equipamentos de proteção individual: luvas, avental, máscara N95 e óculos.

8. Procedimentos

8.1 – Passos

8.1.1 Questionário

- Uso de antifúngico tópico no período de 15 dias que antecedem a coleta.
- Uso de antifúngico sistêmico no período de 30 dias que antecedem a coleta.
- Uso de cremes e pomadas no dia da coleta.

Casos respostas positivas, remarcar a coleta.

8.1.2 Coleta

Pele

- Utilizando uma lâmina de bisturi, raspar vigorosamente as bordas da lesão e acondicionar o material em frasco esterilizado.

Unha

- Utilizando um hollemback ou uma cureta dermatológica, retirar material da região de progressão e confluência do tecido são com o tecido doente e acondicionar em frasco esterilizado. Descartar as amostras iniciais.

Pêlos e cabelo

- Pinçar pêlos tonsurados da região de alopecia e acondicionar em frasco esterilizado.

- Desprezar as lâminas de bisturi utilizadas em recipientes adequados (caixa descarpack).
- Esterilizar pinças, hollemback e curetas.

OBS: em casos de pouco materiais, realizar a coleta na lâmina e semear o material em ágar sabourand e ágar mycosel.

9. Resultados

9.1 Valores de Referência

"Não foram vizualizados estruturas fúngicas na amostra analisada."

10. Registros

A etiqueta gerada pelo sistema Liga durante o atendimento do paciente deve ser colada no pedido médico, que deve também ser assinado e datado por quem realizou a coleta, para posterior lançamento no sistema Liga.

11. Controle de Qualidade

Não se aplica

12. Notas adicionais

Não se aplica.

13. Referências Bibliográficas

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C.;HEINS-VACARI, E.M.; MELO, N. **Tratado de Micologia Médica Lacaz**. 9ª ed. São Paulo: Sarvier, 2002

SIDRIM, J.J.C. *et al.* **Micologia Médica à Luz de Autores Contemporâneos**, 1ª. ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2004

M. POP-MICO-008: PESQUISA DIRETA DE FUNGOS

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICO-008 Versão: 01
Pesquisa Direta de Fungos	Setor: Micologia Folha 1 de 12

SUMÁRIO

1.	**Sinonímia e Símbolos**	**02**
2.	**Indicação médica**	**02**
3.	**Princípio e Método**	**02**
3.1	Princípio	**02**
3.2	Método	**03**
4.	**Amostra**	**03**
4.1	Tipo de Amostras	**03**
4.2	Preparo do paciente	**03**
4.3	Coleta e armazenamento	**03**
4.4	Estabilidade	**03**
4.5	Critérios de rejeição	**03**
5.	**Responsabilidades**	**03**
6.	**Materiais e Reagentes**	**04**
7.	**Equipamentos**	**04**
8.	**Procedimentos**	**04**
9.	**Resultados**	**04**
9.1	Valores de Referência	**04**
9.2	Cálculos	**05**
9.3	Interpretação Clínica	**05**
9.4	Valores Críticos	**05**
10.	**Registros**	**05**
11.	**Controle de Qualidade**	**05**
12.	**Notas adicionais**	**05**
13.	**Referências Bibliográficas**	**05**

Revisado por:	Verificado por:	Aprovado por:	Versão
Vanessa C.R. Magalhães	Liliane Linhares de Oliveira	Vanessa C.R. Magalhães	3
Data: 24/08/2019	Data: 10/01/2020	Data: 15/01/2020	

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICO-008 Versão: 01
Pesquisa Direta de Fungos	Setor: Micologia Folha 2 de 12

CONTROLE HISTÓRICO						
REVISÃO	**DATA**	**Nº PÁGINAS**	**HISTÓRICO ALTERAÇÃO**	**ELABORAÇÃO**	**VERIFICAÇÃO**	**APROVAÇÃO**
00	15/01/20	12	Emissão inicial	Vanessa C.R. Magalhães	Liliane Linhares de Oliveira	Vanessa C.R. Magalhães

1. Sinonímia e Símbolos

Pesquisa direta de fungos, exame direto.

EPI: Equipamento de Proteção Individual

2. Indicação Médica

A observação de um fungo na amostra biológica tem grande valor diagnóstico, pois demonstra a invasão do fungo no tecido e permite uma informação imediata ao médico, a qual pode ser crucial para determinar a terapia apropriada ao paciente. No entanto, se a quantidade da amostra biológica for insuficiente para o exame microscópico e cultura do material, a cultura, na maioria das amostras, tem prioridade sobre o exame microscópico, desde que é método mais específico e em muitos casos, mais sensível. O exame microscópico da amostra é realizado por várias técnicas, dependendo do tipo da amostra e suspeita clínica.

A pesquisa direta para fungos direcionada as micoses sistêmicas utiliza amostras como como aspirado de medula óssea, linfonodo, líquor, amostra respiratórias, secreções, etc.

Já a pesquisa direta para fungos para micoses superficiais utiliza amostras de raspado de pele e seus anexos.

3. Princípio e Método

3.1 Princípio

Revisado por: Vanessa C.R. Magalhães	Verificado por: Liliane Linhares de Oliveira	Aprovado por: Vanessa C.R. Magalhães	Versão 3
Data: 24/08/2019	Data: 10/01/2020	Data: 15/01/2020	

A observação, a partir de um microscópio eletrônico, de um fungo na amostra biológica utilizando o método a fresco com KOH a 20 - 30% ou Tinta Nanquim e em imprint de biópsia ou secreções fixadas com corante panótico.

3.2 Método

A fresco com KOH 20% (KOH))

A fresco com Tinta Nanquim (TN)

Imprint corado com Panótico (PC)

4. Amostra

4.1 Tipo de amostras

Aspirado de medula óssea – só PC

Imprint – só PC

Biópsia e secreções – PC, KOH e TN (se solicitado)

Raspados dérmicos – só KOH

4.2 Preparo do Paciente

Não se aplica.

4.3 Coleta e armazenamento

Ver POP-MICO-001.

4.4 Estabilidade

A estabilidade dos exames preparados com KOH e corados é de até 7 dias.

4.5 Critérios de Rejeição

Amostras não identificadas corretamente.

5. Responsabilidades

- ✓ Técnicos de laboratório
- ✓ Farmacêuticos-Bioquímicos

6. Materiais e Reagentes

- ✓ Lâminas e lamínulas
- ✓ Corantes de Panótico
- ✓ Tinta da China
- ✓ KOH 20 a 30%
- ✓ Óleo de imersão

7. Equipamentos

- ✓ Microscópio de campo claro
- ✓ Cabine de Segurança Biológica

8. Procedimentos

8.1 Processamento das amostras:

- Pêlos, cabelos, escamas de unha e pele para o exame direto as amostras são clarificadas com solução aquosa de KOH a 20% entre lâmina e lamínula.
- Líquor, secreções e fluídos corporais (líquido pleural, ascítico, sinovial, pericárdico, aspirado transtraqueal, lavado gástrico e broncoalveolar [BAL]): devem ser concentrados por centrifugação (2000 rpm por 10 minutos). Os materiais coletados com "swabs" devem ser eluidos em solução salina e centrifugados. O sedimento obtido é o material adequado para o exame microscópico e semeadura em meios de cultura. Confeccionar lâmina e corar com Panótico e quando solicitado, fazer a pesquisa direta com Tinta Nanquim entre lâmina e lamínula.
- Escarro : A porção purulenta da amostra é preferível e porções liquefeitas não são adequadas para isolamento do agente patogênico. Confeccionar a lâmina e corar com Panótico. Se necessário realizar o EMD com KOH e TN.

- Tecidos obtidos por biópsia: requerem fragmentação, com o auxílio de um bisturi estéril ou maceração com pistilo em almofariz. Realizar o EMD com KOH e corar o imrint com PC. Na ausência do imprint, confeccionar o imprint.
- Aspirado de medula óssea: corar o imprint confeccionado pelo médico com PC.

8.2: Procedimento das amostras:

1) Raspado de unhas, escamas epidérmicas e pelos:

a. Aplicar uma gota de KOH aquoso a 20-30% em uma lâmina de microscopia e sobre esta, uma porção da amostra a ser examinada.

b. Cobrir a preparação com uma lamínula e, para intensificar a clarificação, aquecer ligeiramente, sobre a chama de um bico de Bunsen, sem deixar ferver a mistura (opcional).

- Examinar a preparação após 20 minutos em câmara úmida ao MO em campo claro, com objetiva de 10x e 40x, em busca de hifas e leveduras.

2) Amostras respiratórias (escarro, lavado broncoalveolar e aspirado traqueal ou transtraqueal):

a. Dividir o material em alíquotas para exame direto Panótico, Gram, BAAR e cultura;

b Confeccionar a lâmina e corar com PC

Examinar entre lâmina e lamínula ao MO, em campo claro, com objetiva de 10x e 40x; quando necessário, diminuir a luminosidade fechando o diafragma do condensador;

C. Pesquisar a presença de pseudo-hifas e blastoconídeos (candidiase), estruturas arredondas, gemulantes com cápsulas (criptococoses), hifas septadas hialinas e conidióforo com vesícula e fiálides (aspergilose).

3) Amostra de líquido cefalorraquidiano (LCR):

a. Centrifugar toda a amostra por 10 min a 2000 rpm em tubo cônico estéril;

b. Reservar o sobrenadante para exame sorológico em busca de antígenos ou anticorpos, quando necessário;

c. Retirar uma gota do sedimento com uma alça descartável e corar com tinta da China (nanquim);

d. Examinar entre lâmina e lamínula ao MO em busca de estruturas arredondadas gemulantes com cápsulas (criptococoses), mas as outras estruturas fúngicas devem ser anotadas se observadas;

e. Suspender o restante do sedimento e utilizá-lo para cultivo.

4) Amostra de biópsia

a. Fragmentar inicialmente as amostras em pequenos fragmentos com ajuda de um bisturi estéril, empregando uma pequena quantidade de solução salina;

b. Colocar entre lâmina e lamínula com KOH aquoso a 20% e Calcoflúor e aquecer em chama;

c. Examinar o material após 15 ou 30 minutos;

d. Acondicionar a lâmina dentro de uma placa de Petri com algodão umedecido (câmara úmida);

e. Examinar entre lâmina e lamínula ao MO, em campo claro.

5) Amostra de medula óssea, sangue, aspirados, secreção cutânea e "inprints" de tecidos obtidos por biópsia para coloração de Giemsa ou panótico.

a. Corar as lâminas conforme POP'S específicos;

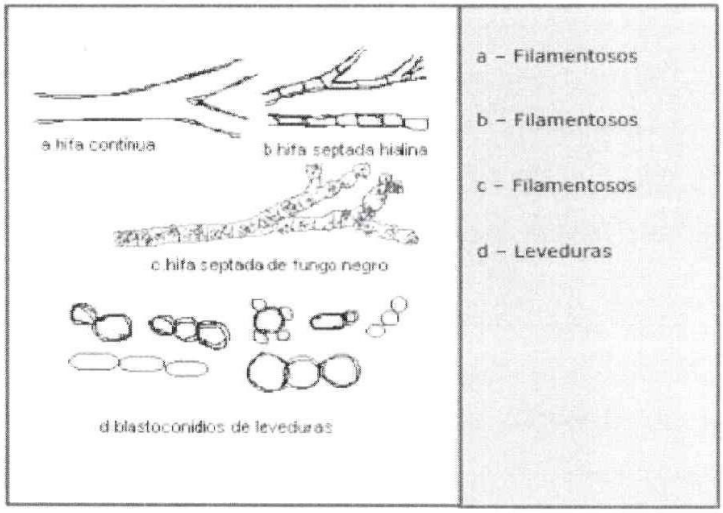
b. Examinar ao MO em busca de formas arredondadas leveduriformes intracelulares (histoplasma).

Obs.: Coloração de Gram:

Coloração ao método de Gram: a. Todos os fungos são Gram- positivos, assim a utilização da coloração não visa a diferenciação dos microrganismos, mas possibilita discriminar elementos fúngicos de artefatos existentes em urina, secreções e fezes e indicar a necessidade de outros métodos de coloração mais eficientes. O Gram pode ser útil, ainda, para o exame de esfregaços contendo Candida sp., Malassezia sp. e Sporothrix spp.

Além disso, ele pode demonstrar a presença de filamentos de Nocardia e Actinomyces spp., agentes que produzem sinais clínicos que lembram infecções micóticas.

Figura 1 – Estruturas microscópicas básicas de fungos


a hifa contínua
b hifa septada hialina
c hifa septada de fungo negro
d blastoconídios de leveduras
a – Filamentosos
b – Filamentosos
c – Filamentosos
d – Leveduras

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICO-008 Versão: 01
Pesquisa Direta de Fungos	Setor: Micologia Folha 9 de 12

Figura 2 - Interpretação de aspectos morfológicos encontrados em exames microscópicos de amostras biológicas

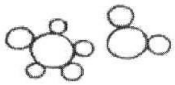
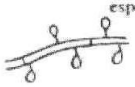
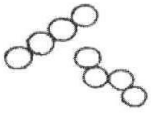
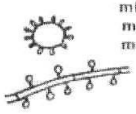
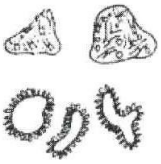
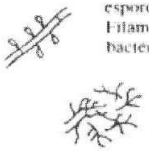
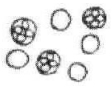
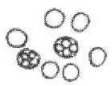
Interpretação de aspectos morfológicos encontrados em exames microscópicos de amostras biológicas

Amostra biológica	Aspecto Morfológico	Interpretação
Pelos	a. Hifas hialinas e/ou artrosporos (1)	a. Dermatófitos
Unhas, escamas de pele	a. Hifas regulares, septadas, ramificadas, hialinas, artrosporadas (1)	a. Dermatófitos
	b. Leveduras e pseudohifas	b. *Candida spp*
	c. Grupo de leveduras e/ou pequenas hifas tortuosas, hialinas (1)	c. *Malassezia sp*
Líquor	a. Levedura capsulada (2)	a. *Cryptococcus sp*
Secreções (trato respiratório, vaginal, nasal, oral, naso-faringe)	a. Hifas ramificadas, hialinas, septadas (3)	a. Fungos filamentosos hialinos (5)
	b. Levedura capsulada (2)	b. *Cryptococcus sp*
	c. Levedura e pseudohifa (1,3)	c. *Candida spp*
	d. Leveduras globosas ou multiformes, de parede espessa, inclusões citoplasmáticas, com múltiplos brotamentos (1)	d. *Paracoccidioides brasiliensis*
Tecidos, pus e aspirados (subcutâneo, ganglionar, cerebral, pulmonar, mucosa ou outro)	a. Hifas irregulares, largas, cenocíticas (1,3)	a. Zigomicetos
	b. Hifas ramificadas, hialinas, septadas (1,3)	b. Fungos filamentosos hialinos(5)
	c. Hifas septadas de cor castanha ou marrom (1,3)	c. Feohifomicetos (fungos demácios)
	d. Estruturas ovaladas, com ou sem septos, de cor castanha (estruturas muriformes) (1)	d. Cromomicetos (agentes de cromomicose)
	e. Levedura e pseudohifa (1,2)	e. *Candida spp*
	f. Levedura capsulada (2)	f. *Cryptococcus sp*
	g. Levedura globosa ou ovóide, de parede espessa, inclusões citoplasmáticas, com brotamento único ou múltiplos (1)	g. Paracoccidioides brasiliensis
	h. Leveduras pequenas, tipo charuto (achado muito raro) (3)	h. Sporothrix schenckii
	i. Leveduras pequenas em macrófagos (4)	i. *Histoplasma capsulatum*
Fluidos oculares	a. Fragmentos de hifas, hialinas, septadas (1,3)	a. Fungos filamentosos hialinos (5)
	b. Leveduras e pseudohifas (1,3)	b. *Candida spp*
Sangue e medula óssea	a. Fragmentos de hifas ramificadas, hialinas, septadas (3,4)	a. Fungos filamentosos (5)
	b. Levedura capsulada (2)	b. *Cryptococcus sp*
	c. Leveduras em brotamento (3,4)	c. Leveduras (6)
	d. Leveduras pequenas em macrófagos (4)	d. Histoplasma capsulatum

(1) Exame microscópico com KOH
(2) Exame microscópico com tinta nanquim
(3) Exame microscópico com coloração de Gram
(4) Exame microscópico com coloração de Giemsa ou panótica
(5) São fungos saprófitas que podem se tornar oportunistas, por ex. ***Aspergillus***, ***Fusarium***, ***Acremonium***, cuja identificação só é possível pela cultura.
(6) No sangue, leveduras do genero ***Candida*** não formam pseudohifas e a identificação de gênero e espécie é possível somente, após isolamento em meio de cultura.

Revisado por: Vanessa C.R. Magalhães	Verificado por: Liliane Linhares de Oliveira	Aprovado por: Vanessa C.R. Magalhães	Versão 3
Data: 24/08/2019	Data: 10/01/2020	Data: 15/01/2020	

Figura 3 - Sumário das micoses

Micoses	Fungos	Estrutura	Tecido	Diâmetro	Cultura Ambiente 20°C
Criptococose	*Cryptococcus neoformans*		Levedura com cápsulada	4 - 20 µ	Levedura com cápsula 
Blastomicose	*Blastomyces dermatitidis*		Leveduriforme	8 - 15 µ	micélio com esporos 
Paracoccidioidomicose	*Paracoccidioides brasiliensis*		Leveduriforme	5 - 30 µ	micélio com esporos 
Lobomicose	*Loboa loboi*		Leveduriforme catenular	8 - 12 µ	não tem cultura
Histoplasmose	*Histoplasma capsulatum*		Leveduriforme intracelular	2 - 5 µ	micélio com microconídios e macroconídio mamilonado 
Micetoma Fumicótico Actinomicótico	vários fungos vários Actinomycetos			grânulos de 2 mm	Micélio com esporos Filamentos bacterianos 
Algoses	*Prototheca* sp. *Chorella* sp.		Esférula (teca)	10 - 30 µ	

9. Resultados

9.1 Valores de Referência

Negativo.

9.2 Cálculos

Não se aplica.

9.3 Interpretação Clínica

Não se aplica.

9.4 Valores Críticos

Comunicar agentes fúngicos de micoses sistêmicas.

10. Registros

Registrar os exames de pesquisa de fungos e o seu resultado no caderno do setor.

11. Controle de Qualidade

É realizado o preparo de uma lâmina de KOH 20% com amostra viscosa de escarro. Observa a lâmina no ato do preparo e após 20 minutos para observar a clarificação do material.

É realizado a coloração de uma lâmina confeccionada com uma levedura estoque e corada com corante Panótico.

12. Notas adicionais

Utilizar os corante dentro dos prazos de validade especificados pelo fabricante.

13. Referências Bibliográficas

- ✓ HENRY, J.B. Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais. 21ª edição, São Paulo: Manole, 2013.
- ✓ KONEMAN, E. W. et al. Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido. 6ª edição, Rio de Janeiro: Medsi, 2008.
- ✓ OPLUSTIL, C. P. et al. Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica. 3ª edição, São Paulo: Sarvier, 2010.
- ✓ Manual de Micologia Médica, Paulo Murillo Neufeld,1999;
- ✓ Micologia Médica, Marcio Biasoli Control-lab 1ª EDIÇÃO – 1996.
- ✓ Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 8: Detecção e identificação de fungos de importância médica /Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2013.

N. POP-MICO-009: FLUXO DE PCR LEISHMANIA TEGUMENTAR

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICO-09 Versão: 01
Fluxo de PCR Leishmania Tegumentar	Setor: Micologia Folha 1 de 5

SUMÁRIO

1.	**Sinonímia e Símbolos**	**02**
2.	**Indicação médica**	**02**
3.	**Princípio e Método**	**02**
3.1	Princípio	**02**
3.2	Método	**02**
4.	**Amostra**	**02**
4.1	Tipo de Amostras	**02**
4.2	Preparo do paciente	**02**
4.3	Coleta e armazenamento	**02**
4.4	Estabilidade	**02**
4.5	Critérios de rejeição	**03**
5.	**Responsabilidades**	**03**
6.	**Materiais e Reagentes**	**03**
7.	**Equipamentos**	**03**
8.	**Procedimentos**	**03**
8.1	Conferência Requisição Médica	**03**
8.2	Conferência Identificação da Amostra	**03**
8.3	Conferência do Livro de enfermagem	**03**
8.4	Rejeição de Amostras	**04**
8.5	Registro de Dados	**04**
8.7	Armazenamento das Amostras	**04**
8.8	Encaminhamento das Amostras	**04**
9.	**Resultados**	**05**
9.1	Valores de Referência	**05**
9.2	Cálculos	**05**
9.3	Interpretação Clínica	**05**
9.4	Valores Críticos	**05**
10.	**Registros**	**05**
11.	**Controle de Qualidade**	**05**
12.	**Notas adicionais**	**05**
13.	**Referências Bibliográficas**	**05**

Elaboração: Vanessa Magalhães	Revisado por: Liliane Linhares de Oliveira	Aprovado por: Tayrine Araújo Santos	Próxima revisão 08/2022	Versão 01
Data: 09/01/2020	Data: 10/01/2020	Data: 11/02/2020		

CONTROLE HISTÓRICO						
REVISÃO	**DATA**	**Nº PÁGINAS**	**HISTÓRICO ALTERAÇÃO**	**ELABORAÇÃO**	**VERIFICAÇÃO**	**APROVAÇÃO**
00	10/01/20	05	Emissão inicial	Vanessa C. R. Magalhães	Liliane Linhares de Oliveira	Tayrine Araújo

1. Sinonímia e Símbolos

POP – Procedimento Operacional Padrão
HEM- Hospital Eduardo de Menezes

2. Indicação Médica

Não se aplica.

3. Princípio e Método

Este POP visa fornecer informações sobre o recebimento, registro, armazenamento e encaminhamento de amostras para exames de PCR de Leismanias Tegumentar para laboratório de apoio, Rene Rachou.

4. Amostra

- Fragmentos de biópsias, tecidos;

5. Responsabilidades

Técnicos de patologia clínica, distribuição, médicos e farmacêuticos-bioquímicos.

6. Materiais e Reagentes

Não se aplica.

7. Equipamentos

Não se aplica.

8. Procedimentos

8.1 Conferência Requisição Médica

Conferir o pedido médico observando os itens abaixo:
. Identificação do paciente: nome completo, número de prontuário e registro
. Local de internação/ setor
. Data de solicitação
. Identificação da amostra: sítio de coleta e tipo de amostra

8.2 Conferência Identificação da Amostra

A amostra deverá estar identificada com o nome do paciente, o número de registro do paciente, data da coleta, horário da coleta e responsável pelo procedimento. A amostra recém-colhida deverá estar acondicionada em frasco estéril à seco.

8.3 Armazenamento

A amostra conferida deverá ser acondicionada no frezeer até o envio para o Rene Rachou.

8.4 Registros de resultados

O exame de pesquisa de leishmaniose é realizado no setor de micologia no HEM.

O exame de cultura de leishmaniose e PCR de leishmaniose é realizado no Rene Rachou.

Os resultados de cultura e PCR de leishamniose deverão ser verificados no sistema e atualizados no caderno do setor.

Site: www.gal.fiocruz.br

- clicar em avançado
- ir para o gal
- usuário: Tayrine.santos
- senha: hem.2020 (ano corrente)
- módulo: biologia molecular
- laboratório: HEM -MG
- Biologia médica
- Consulta
- Consulta paciente> digitar o nome do paciente
- anotar o resultado de cultura e PCR no caderno.

8.5 Encaminhamento de amostras

As amostras só serão encaminhadas após triagem dos resultados de pesquisa e cultura. Só encaminhar amostras com ambos resultados negativos.
Amostras que não foram realizados algum destes exames também poderão ser encaminhadas.

Pegar o pedido médico na pasta e separar as amostras em um saquinho e entregar os pedidos para a distribuição.

8.8 Cadastro das amostras

O cadastro das amostras deverá ser feitos no gal da fiocruz pela secretaria do laboratório. Material: biópsia e exame: PCR

9. Resultados

Os resultados dos exames deverão ser impressos do site e enviados o resultado para o prontuário do paciente, através da secretaria do laboratório.

10. Registros

Elaboração: Vanessa Magalhães	Revisado por: Liliane Linhares de Oliveira	Aprovado por: Tayrine Araújo	Próxima revisão 08/2022	Versão 01
Data: 09/01/2020	Data: 10/01/2020	Data: 11/02/2020		

Cadernos do setor.

11. Controle de Qualidade

Não se aplica.

12. Notas adicionais

Os exames deverão ser encaminhados pelo menos uma vez por semana. A responsabilidade do envio será pela bioquímica da do setor e pela pessoa delegada por ela.

13. Referências Bibliográficas

O. POP-MICO-10: FLUXO RESISTÊNCIA MEDICAMENTOSA EM HANSENÍASE.

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICO-10 Versão: 01
Fluxo Resistência Medicamentosa em Hanseníase	Setor: Micologia Folha 1 de 5

SUMÁRIO

1.	**Sinonímia e Símbolos**	**02**
2.	**Indicação médica**	**02**
3.	**Princípio e Método**	**02**
3.1	Princípio	**02**
3.2	Método	**02**
4.	**Amostra**	**02**
4.1	Tipo de Amostras	**02**
4.2	Preparo do paciente	**02**
4.3	Coleta e armazenamento	**02**
4.4	Estabilidade	**02**
4.5	Critérios de rejeição	**03**
5.	**Responsabilidades**	**03**
6.	**Materiais e Reagentes**	**03**
7.	**Equipamentos**	**03**
8.	**Procedimentos**	**03**
8.1	Conferência Requisição Médica	**03**
8.2	Conferência Identificação da Amostra	**03**
8.3	Conferência do Livro de enfermagem	**03**
8.4	Rejeição de Amostras	**04**
8.5	Registro de Dados	**04**
8.7	Armazenamento das Amostras	**04**
8.8	Encaminhamento das Amostras	**04**
9.	**Resultados**	**05**
9.1	Valores de Referência	**05**
9.2	Cálculos	**05**
9.3	Interpretação Clínica	**05**
9.4	Valores Críticos	**05**
10.	**Registros**	**05**
11.	**Controle de Qualidade**	**05**
12.	**Notas adicionais**	**05**

Elaboração: Vanessa Magalhães	Revisado por: Liliane Linhares de Oliveira	Aprovado por: Tayrine Araújo	Próxima revisão 01/2022	Versão 01
Data: 09/01/2020	Data: 10/01/2020	Data: 11/02/2020		

13. Referências Bibliográficas 05

CONTROLE HISTÓRICO						
REVISÃO	**DATA**	**Nº PÁGINAS**	**HISTÓRICO ALTERAÇÃO**	**ELABORAÇÃO**	**VERIFICAÇÃO**	**APROVAÇÃO**
00	10/01/20	05	Emissão inicial	Vanessa C. R. Magalhães	Liliane Linhares de Oliveira	Tayrine Araújo

1. Sinonímia e Símbolos

POP – Procedimento Operacional Padrão
HEM- Hospital Eduardo de Menezes

2. Indicação Médica

Não se aplica.

3. Princípio e Método

Este POP visa fornecer informações sobre o recebimento, registro, armazenamento e encaminhamento de amostras para exames de Resistência Medicamentosa em hanseníase realizada no Instituto Lauro de Souza Lima.

4. Amostra

- Fragmentos de biópsias, tecidos armazenados em ependorfs estéreis com com álcool 70% cobrindo o material.

5. Responsabilidades

Técnicos de patologia clínica, distribuição, médicos e farmacêuticos-bioquímicos.

6. Materiais e Reagentes

Não se aplica.

7. Equipamentos

Não se aplica.

8. Procedimentos

8.1 Conferência da Ficha do Formsus preenchida

Conferir a ficha observando os itens abaixo:
. Identificação do paciente: nome completo, número de prontuário e registro
. Data de solicitação
. Número de Notificação preenchido.
. Data da coleta
. Resultado de Indice Baciloscópico preenchido.

8.2 Armazenamento

A amostra conferida deverá ser acondicionada a temperatura ambiente.

8.3 Encaminhamento das amostras

A amostras deverão ser encaminhadas para a FUNED, em até 7 dias da coleta do material.

- Preencher o "Formulário de envio de amostra para investigação de Res Medicamentosa"
- Protocolar os dados do paciente no caderno de protocolo

- Entregar o formulário do Formsus, o formulário de envio, o caderno de protocolo e a amostra para o setor de distribuição.

8.4 Cadastro das amostras

As amostras deverão ser cadastradas no Formsus no link:http://formsus.datasus.gov.br/site/formulario.php?id_aplicacao=49612

- Após cadastro, será gerado um número de protocolo o qual deverá ser anotado no caderno de protocolo.
- Imprimir o formulário Formsus preenchido e grampear junto com a preenchido pelo médico.
- Anexar o formulário de envio
- Encaminhar as amostras para FUNED

8.5 Impressão de resultados

A impressão de resultados será feita no link:http://formsus.datasus.gov.br/site/formulario.php?id_aplicacao=49612.

- Clicar em alterar ficha
- Digitar o número do protocolo
- Imprimir o resultado
- Passar o resultado para o caderno de protocolo

9. Resultados

Os resultados dos exames deverão ser impressos do site e enviados o resultado para o prontuário do paciente, através do setor de micologia.

10. Registros

Cadernos do setor.

11. Controle de Qualidade

Não se aplica.

12. Notas adicionais

Os exames deverão ser encaminhados pelo menos uma vez por semana. A responsabilidade do envio será pela bioquímicada do setor e pela pessoa delegada por ela.

13. Referências Bibliográficas

P. POP-MICO-011: CULTURA DE FUNGOS

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICO-011 Versão: 02
Cultura de Fungos	Setor:Microbiologia Folha 1 de 16

SUMÁRIO

1.	**Sinonímia e Símbolos**	**02**
2.	**Indicação médica**	**02**
3.	**Princípio e Método**	**02**
3.1	Princípio	**02**
3.2	Método	**02**
4.	**Amostra**	**03**
4.1	Tipo de Amostras	**03**
4.2	Preparo do paciente	**03**
4.3	Coleta	**03**
4.4	Armazenamento e estabilidade	**03**
4.5	Critérios de rejeição	**03**
5.	**Responsabilidades**	**03**
6.	**Materiais e Reagentes**	**03**
7.	**Equipamentos**	**04**
8.	**Procedimentos**	**04**
8.1	Procedimentos	**03**
8.2	Formatação	**04**
9.	**Resultados**	**07**
9.1	Valores de Referência	**07**
9.2	Cálculos	**07**
9.3	Interpretação Clínica	**07**
9.4	Valores Críticos	**07**
10.	**Registros**	**07**
11.	**Controle de Qualidade**	**07**
12.	**Notas adicionais**	**08**
13.	**Referências Bibliográficas**	**08**

Elaborado por: Vanessa C. R. Magalhães	Verificado por: Vanessa C. R. Magalhães	Aprovado por: Tayrine Araújo Santos	Versão 01
Data: 05/05/2016	Data: 11/02/2020	Data: 11/02/2020	

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICO-011 Versão: 02
Cultura de Fungos	Setor:Microbiologia Folha 2 de 16

CONTROLE HISTÓRICO						
REVISÃO	**DATA**	**Nº PÁGINAS**	**HISTÓRICO ALTERAÇÃO**	**ELABORAÇÃO**	**VERIFICAÇÃO**	**APROVAÇÃO**
00	07/07/16	12	Emissão inicial	Vanessa C. R. Magalhães	Tatiane Maria Dutra	Hyllo Baeta
01	11/02/20	12	Cultura de sangue e Aspirado de Medula Óssea	Vanessa C. R. Magalhães	Vanessa C. R. Magalhães	Tayrine Araújo Santos

1. Sinonímia e Símbolos

Cultura para dermatófitos,cultura para monília, cultura para leveduras.

2. Indicação Médica

Diagnóstico das micoses superficiais, cutâneas, subcutâneas, oportunistas e sistêmicas.

3. Princípio e Método

3.1 Princípio

Baseia-se no plantio da amostra clínica em meios de cultura específicos para crescimento fúngico (Ágar Sabouroud e Ágar Mycosel).

3.2 Método

A classificação de filamentosos é feita, em regra, pelas características morfológicas, tanto macroscópicas (cor, aspecto, textura da colônia, etc.), quanto microscópicas (forma e cor da hifa, presença ou não de septos, tipo e arranjo de esporos, etc.), além da velocidade de crescimento (lenta, moderada ou rápida). Já a identificação de leveduras é feita, principalmente, por características fisiológicas, avaliadas após semeadura em ágar cromogênico, prova do tubo germinativo e prova da urease, já que a morfologia destes

fungos não é muito variada e não permite distinção entre espécies e, em regra, entre gêneros.

4. Amostra

4.1 Tipos de amostras

Escarro espontâneo, escarro induzido, aspirado traqueal, lavado brônquico, lavado gástrico, urina, líquidos assépticos (líquor, líquido pleural, ascítico, sinovial, pericárdico e peritoneal), material de ressecção, biópsia, sangue e medula óssea, secreções purulentas, aspirado de gânglios, aspirado de tumores, fezes, pele e pêlos, unhas.

4.2 Preparo do Paciente

Sempre que possível o paciente deve suspender a terapia específica antes da coleta do material. Para lesões cutâneas de pele e unhas, orientar o paciente para evitar uso de medicação tópica e esmaltes por 4 a 5 dias antes da coleta de escamas.

4.3 Coleta

O tipo e a qualidade da amostra biológica, submetida ao laboratório de micologia, são fatores pré-analíticos extremamente importantes para o sucesso do isolamento e identificação do verdadeiro agente etiológico de infecções fúngicas. Para tanto, a coleta do material biológico, seu transporte e armazenamento adequados devem ser cuidadosamente considerados.

Material Clínico	Procedimento de coleta
Escarro	Recolher, de preferência, a primeira expectoração da manhã, após gargarejo com água limpa ou fervida, em frasco de boca larga, esterilizado. Não deve conter saliva.
Aspirado gástrico	Aspirar cerca de 5 a 10 mL de suco gástrico, através de sonda nasogástrica, pela manhã, em jejum.
Aspirado traqueal e secreção obtida por broncoscopia	Procedimento realizado por médico treinado. O material colhido deve ser colocado em recipiente estéril.
Sangue e aspirado de medula óssea	Fazer antissepsia rigorosa no local da punção e coletar cerca de 5 a 6 mL de sangue venoso, que deverá ser injetado diretamente em frasco contendo meio de cultura (ver detalhes no próximo item). A última gota de material deve ser distendida em uma lâmina de microscopia, para coloração de Giemsa.
Líquor	Fazer antissepsia rigorosa no local da punção. Coletar 2 mL ou mais, para exame microscópico e cultura para fungos. Os tubos na rotina hospitalar devem ser usados na seguinte sequência: 1ª exame bioquímico, 2ª exame de celularidade, 3ª microbiológico, reduzindo assim a possibilidade de isolamento de contaminantes da pele. Entretanto, a coleta da amostra em tubos específicos para cada um desses exames aumenta a sensibilidade do exame micológico e, por isso, deve ser recomendada.
Tecido obtido por biópsia, necropsia e peças operatórias	Colher assepticamente, utilizando instrumentos estéreis e colocar o material em recipiente estéril, com salina. Não adicionar nenhum líquido fixador.
Líquidos corporais (pleural, ascítico, pericárdico e sinovial)	Fazer assepsia rigorosa no local da punção. Coletar cerca de 5 a 10mL de líquido em tubo de ensaio estéril.
Pus e material de abscesso	Devem ser colhidos de preferência, por aspiração de abscessos fechados, com seringa e agulha estéril. Se a lesão for aberta, limpar o local com gaze esterilizada embebida em salina estéril, para eliminar os exsudatos superficiais que são altamente contaminados com bactérias. A seguir, colher o material com *swab*. Mergulhar o *swab* umedecido em salina estéril e enviar o tubo ao laboratório.

Pele e pelos	Se possível, descontaminar a pele com álcool 70% antes da coleta. Raspar com lâmina de bisturi as escamas cutâneas da borda das lesões. Pode-se utilizar também uma lâmina de microscopia. Colocar o material entre duas lâminas limpas, de preferência esterilizadas, vedando-se as bordas das lâminas com fita adesiva para evitar perda do material. Os pelos tonsurados, devem ser retirados com pinça estéril e acondicionados entre lâminas ou em potes, de preferência esterilizados.
Unhas	Fazer limpeza prévia das unhas escovando com água e sabão. Cortar com tesoura e desprezar a parte descolada da unha e, com lâmina de bisturi, raspar as áreas mais profundas e pulverulentas. Colocar esse material entre lâminas e vedá-las com fita adesiva.
Urina	A amostra biológica mais apropriada para o diagnóstico de micose do trato urinário é obtida por sondagem ou citoscopia. Quando não for possível, e para evitar contaminação com micro-organismos presentes nas áreas vizinhas, fazer limpeza prévia da região perineal com água e sabão, desprezar o primeiro jato de urina da manhã, e colher 3 a 5 mL de urina em frasco estéril. Coleções de 24 horas não têm valor para diagnóstico micológico.
Fezes	Fazer lavagem prévia da região anal com água e sabão, coletar porções de fezes em recipiente estéril com tampa ou *swab* anal, mergulhar o *swab* em salina estéril e enviar o tubo ao laboratório.
Secreção de conduto auditivo externo	Colher material por curetagem da lesão ou com *swab* estéril. Mergulhar o *swab* umedecido em salina estéril e enviar o tubo ao laboratório.
Material de Micose ocular	O melhor método para recuperação de fungos requer raspado de córnea, aspiração de líquido intra-ocular ou biópsia. A coleta com auxílio de *swab* não é indicada em local de drenagem.
Lesão de nariz e seios paranasais	Coletar secreção, material necrótico ou tecido obtido por biópsia em recipiente estéril.
Mucosa oral e orofaringe	Coletar com *swab* estéril o material de lesão de mucosa jugal, papilas linguais ou região tonsilar. Mergulhar o *swab* umedecido em salina estéril e enviar o tubo ao laboratório.
Secreção vaginal	Com auxílio de espéculo, coletar material da lesão ou do fundo de saco vaginal com *swab* estéril. Mergulhar o *swab* umedecido em salina estéril e enviar o tubo ao laboratório.

4.4 Armazenamento e Estabilidade

Coleta de swabs devem ser evitadas, preferir aspirados. Os *swabs* devem ser colocados em tubos contendo salina estéril e devem ser transportados o mais

rápido possível e/ou conservados a 4ºC durante o prazo de 8 a 10 horas, de modo a evitar a dessecação da amostra.

Os materiais ditos contaminados, tais como urina, fezes, pus, secreções de feridas ou trato respiratório, devem ser enviados, sob refrigeração a 4ºC, ao laboratório, o mais rápido possível, até 18 horas.

Líquor e líquidos cavitários devem ser enviados em tubo estéril selado hermeticamente e transportados o mais rápido possível, para assegurar o diagnóstico.

Sangue e material de punção de medula óssea devem ser inoculados em meio sólido, na beira do leito, imediatamente após a coleta.

4.5 Critérios de Rejeição

- Material clínico coletado, rotulado e transportado de maneira inadequada.
- Material coletado em recipiente não íntegro e em frasco não estéril.
- Pool de amostras de urina colhidas em 24 horas.
- Aspirado de medula óssea e sangue coletados em anticoagulante EDTA.
- Amostras tratadas com KOH o potássio destrói, após algumas horas, as estruturas do fungo, inviabilizando seu isolamento em meio de cultura)

5. Responsabilidades

Técnicos de patologia e Farmacêuticos bioquímicos.

6. Materiais e Reagentes

- Lamínulas;
- Solução de Hidróxido de sódio (KOH) 10 A 20%;

- Meio de cultura Saboraud em tubo;
- Meio de cultura Mycosel em tubo;
- Frascos estéreis;
- Lâminas de bisturi;

7. Equipamentos

Cabine de Segurança Biológica (CSB);

8. Procedimentos

8.1 Pré-tratamento e processamento da amostra

- **Pêlos, cabelos, escamas de unha e pele:** inocular diretamente na superfície dos meios de cultura, sem nenhum tratamento prévio.

- **Líquor, secreções e fluídos corporais (líquido pleural, ascítico, sinovial, pericárdico, aspirado traqueal, lavado gástrico e broncoalveolar [BAL]):** Concentrar por centrifugação (1500 a 2000 rpm por 10 minutos e o sedimento deve ser inoculado nos meios de cultura..

- **Urina:** Semear uma alíquota (alça calibrada) no meio de cultura Cled para exame quantitativo de leveduras, pela contagem de unidades formadoras de colônias (UFC). A outra alíquota deve ser centrifugada (1500 a 2000 rpm por 10 minutos) e o sedimento utilizado para exame microscópico e nova semeadura em tubo de ágar Saboroud e ágar Mycosel (cultura qualitativa).

- **Escarro:** a porção purulenta deve ser semeada nos meios de cultura.

- **Tecidos obtidos por biópsia:** requerem fragmentação, com o auxílio de um bisturi estéril ou maceração (gânglio); pode ser feito dentro de um frasco estéril. Esse procedimento visa aumentar a área de superfície e expor o microrganismo ligado ao tecido, ao maior contato com o meio de cultura. Após fragmentação o material deve ser inoculado nos meios de cultura.

- **Swabs:** atritar o *swab*, imerso em água destilada ou solução salina estéreis, contra a parede do tubo para liberar a amostra clínica nele contida. Descartar o *swab,* centrifugar o líquido (1500 a 2000 rpm por 10 minutos) e semear o sedimento nos meios de cultura. Caso o *swab* não tenha sido encaminhado imerso em água destilada ou solução salina estéreis, acrescentar um dos referidos líquidos ao mesmo e proceder como descrito anteriormente.

- **Sangue e aspirado de medula óssea:** não necessitam preparação. Para cultura, 0,2 mL (3 gotas) de amostras devem ser inoculadas, imediatamente, na beira do leito, nos tubos de ágar Sabouroud e ágar Mycosel.

Obs: A semeadura em meios de culturas deverá ser realizada em movimentos de estrias (ziguezague) sobre a superfície do meio. O material não deve ser colocado em profundidade no ágar, mas apenas aderido à superfície do meio.

8.2 Exame microscópico

O exame microscópico da amostra é realizado por várias técnicas, dependendo do tipo da amostra e suspeita clínica.

1) Exame microscópico direto com hidróxido de potássio (KOH) a 20%
Técnica utilizada para exame de pelos, pele, unha, tecido obtido por biópsia,

exsudatos espessos e outros materiais densos.

2) Exame microscópico direto com tinta nanquim (tinta da China)
Utilizado em amostras de líquor, urina, secreções ou exsudatos, para visualização de leveduras capsuladas do gênero *Cryptococcus.*

3) Exame microscópico com coloração pelo método de Gram

Todos os fungos são Gram-positivos, assim a utilização da coloração não visa à diferenciação dos micro-organismos, mas possibilita discriminar elementos fúngicos de artefatos existentes.

4) Exame microscópico com coloração panótica – Giemsa

Essas colorações são usadas para pesquisa de *Histoplasma capsulatum* em diversas amostras biológicas: medula óssea, sangue, aspirados e secreção cutânea e "imprints" de tecidos obtidos por biópsia.

No microscópio: observar o arranjo dos conídios ou esporos.

8.2 Incubação

Os tubos de ágar Saboraud e Mycosel deverão ser incubados a temperatura ambiente (aproximadamente 25º à 30º C) por até 60 dias.

As placas de ágar Cled deverão ser incubadas em estufa bacteriológica a 35º C +/- 1ºC por até 48 horas.

Quando a hipótese diagnóstica apontar para um fungo dimórfico, repicá-lo para uma placa de Agar chocolate ou tubo Sabouraud e incubar a 37º C, para evidenciar a forma leveduriforme.

8.3 Leitura

A leitura dos tubos deve ser realizada semanalmente até completar os 60 dias de incubação e o andamento deve ser registrado no Caderno de andamento do setor com todas as observações, referentes a cada tubo de cultura de cada

amostra, como: data da leitura, características morfológicas das colônias, aspecto (lisa ou rugosa), e contaminação parcial ou total de cada tubo.

8.4 Identificação do fungo

O profissional de laboratório deve tentar identificar todas as culturas positivas relevante e emitir o resultado mais acurado possível, porém, muitas vezes, em especial para os fungos filamentosos, isso não é possível pelo grau de dificuldade e complexidade desses micro-organismos. Nesses casos, a identificação do grupo de fungos pode ser suficiente para o diagnóstico da micose, por exemplo, zigomicetos, feo-hifomicetos, dermatófitos, leveduras, etc.

8.4.1 Identificação de fungos leveduriformes

Colônias de levedura obtidas de amostra biológica só devem ser identificadas quando estiverem puras, ou seja, sem contaminação bacteriana ou em mistura de espécies. Para tanto, deve ser realizado o plaqueamento de cada colônia morfologicamente distinta e confirmada sua pureza, por microscopia.

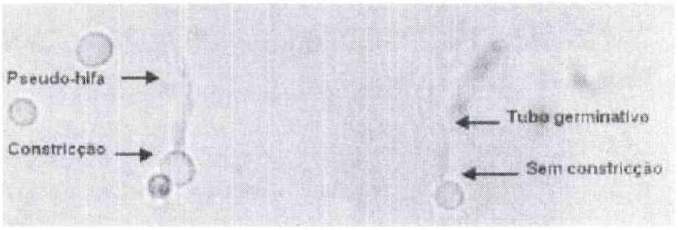
8.4.1.1 Suspeita de Candida ssp.

1. Plaqueamento em Chromagar Candida ®: esse meio de cultura permite a diferenciação de algumas espécies de Candida spp através da produção de cores diferentes, descritas na tabela abaixo:

Cepa	Resultado
Cândida albicans	Crescimento de colônias verdes
Cândida tropicalis	Crescimento de colônias azul metálicas
Cândida Krusei	Crescimento de colônias cor de rosa
Outras espécies de Cândida	Crescimento de colônias com coloração entre brancas e malvas

Obs: Liberar as apenas as colônias verdes e azuis. Colorações rosadas devem ser excluídas a possibilidade *Cryptococcus* spp. Colônias rosas devem ser inoculadas no Agar Níger e testar ureia.

2. Técnica do tubo germinativo: utilizar quando as placas de Chromagar Candida ® não estiverem disponíveis. A partir de uma alçada da colônia isolada, fazer uma suspensão em tubo de ensaio contendo 0,5 ml de soro humano. Incubar a 37ºC durante período máximo de 3 horas, pois, se esse prazo for ultrapassado, outras espécies de *Candida* e de outros gêneros formam também tubo germinativo. Depositar então uma gota da suspensão sobre lâmina, cobrir com lamínula e examinar ao microscópio óptico. A presença de tubo germinativo, na forma de pequeno filamento que brota do blastoconídio, sem formar constrição com a célula-mãe, permite a identificação presuntiva de *Candida albicans.*



8.4.1.2 Suspeita de Cryptococcus spp. e Rhodotorula spp.

Deve-se associar a cor da colônias com a prova da urease. Para a prova da urease semear uma alçada da levedura na superfície do meio de urease (ágar uréia) e incubar a temperatura de 35º C. A mudança da cor do meio para rosa bispo em 24 horas indica reação positiva.

Interpretação:

- Colônia laranja, avermelhada ou salmão e urease positiva: *Rhodotorula* spp.
- Colônia branca ou bege e urease positiva: *Cryptococcus* spp.

8.4.2 Identificação de fungos filamentosos

8.4.2.1 Observação da morfologia da colônia

A análise da colônia visa observar:

- Cor
- Textura
- Superfície
- Pigmento difusível no meio de cultura

Essa leitura é feita no próprio tubo de ensaio contendo a cultura primária do fungo.

8.4.2.2 Velocidade do crescimento

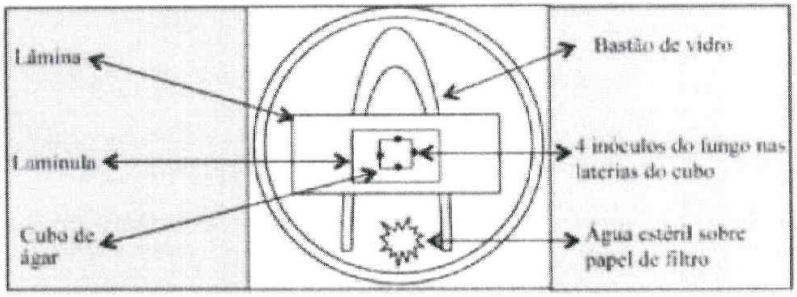
A velocidade de crescimento que pode ser rápida (< 7 dias), intermediária (8 a 14 dias) ou lenta (> 15 dias) é fundamental para identificação presuntiva do fungo.

8.4.2.3 Avaliação microscópica

A observação das estruturas microscópicas, tais como: hifa hialina ou demácia, septada ou cenocítica, forma, disposição e formação dos esporos são suficientes, em geral, para a identificação dos gêneros, mas nem sempre para a caracterização das espécies de fungos filamentosos.

1. Técnica do microcultivo: colocar sobre uma lâmina esterilizada, contida em uma placa de Petri estéril, um cubo de ágar Cled. A lâmina deve estar sobre um suporte, que pode ser formado por outra lâmina, ou um pequeno bastão de vidro recurvado, ou ainda, dois palitos de fósforo. Semear o fungo, a partir de repique recente, nos 4 lados do cubo de ágar. Recobrir com uma lamínula esterilizada. Fazer uma câmara úmida, adicionando 1 a 2 ml de água destilada estéril no fundo da placa ou embeber um pequeno chumaço de algodão estéril, para evitar a dessecação do meio de cultura, durante o crescimento do fungo. Tampar a placa e deixar à temperatura ambiente por 7 a 10 dias, até que se observe desenvolvimento de hifas com ou sem pigmentação. Após esse período inativar a esporulação, adicionando 1 ml de formol ao algodão e vedando a placa com fita adesiva durante 24 horas - 48 horas. O vapor de formol, além de inativar o fungo, irá auxiliar na fixação das estruturas microscópicas. Retirar a lamínula com auxílio de uma pinça, cuidadosamente, uma vez que nela deverão

estar aderidas as hifas e esporos do fungo. Pingar uma gota de corante azul de lactofenol-algodão ("Cotton Blue") e montar sobre uma lâmina. Desprezar o cubo de ágar e, em seu lugar, pingar outra gota de corante lactofenol-azul algodão e recobrir com lamínula, para visualizar esporos e hifas também aderidos à lâmina. Observar em microscópio ótico com objetiva de 40 X, o tipo e cor da hifa, forma, disposição e formação de esporos.



8.4.3 Identificação de dimórficos

Os fungos dimórficos são fungos filamentosos que podem, sob determinadas condições, assumir forma de levedura, diminuindo a capacidade de filamentação e dividindo-se por brotamento, conferindo às colônias aspecto cremoso. Para sua identificação deve-se seguir todos os passos para identificação de fungos filamentosos, descritos no item 8.4.2 e realizar também a técnica de comprovação do dismorfismo, na qual o fungo deve ser inoculado em tubo de ágar Sabouroud e incubado a 37°C, para posterior avaliação microscópica da colônia.

9. Resultados

9.1 Valores de Referência

Não houve crescimento após 30 dias de incubação.

9.2 Cálculos

Não se aplica.

9.3 Interpretação Clínica

O isolamento de um fungo em meio de cultura não significa, necessariamente, que ele é o agente etiológico da infecção. A presença de fungos na microbiota (flora) de pacientes, por exemplo, *Candida* sp., e no meio ambiente, por exemplo *Aspergillus* sp., pode resultar em cultura positiva. Isso explica o grande número de culturas positiva para fungos a partir de uma amostra biológica. A relação entre o fungo isolado em meio de cultura e sinais e sintomas é critério clínico-epidemiológico. No entanto, deve-se sempre valorizar o isolamento de um fungo procedente de:

Qualquer amostra biológica que mostrou resultado positivo ao exame microscópico:

- ✓ Micose cutânea.
- ✓ Fluídos corporais normalmente estéreis.
- ✓ Tecidos obtidos por biópsias ou peças operatórias.
- ✓ Raspado de córnea.
- ✓ Paciente imunossuprimido (transplantado ou com Aids).
- ✓ Paciente em uso de antibióticos por longo tempo, internado em unidade de terapia intensiva ou submetido à ventilação mecânica, cateterismo ou outra manipulação.

Além desses casos, têm importância as culturas de fungos:

- ✓ Dimórficos.
- ✓ Fungos isolados mais de uma vez do mesmo tipo de amostra biológica coletada em diferentes dias e procedentes do mesmo paciente.
- ✓ Isolados de ponta de cateter (alimentação parenteral e infusões venosas).

9.4 Valores Críticos

Crescimento fúngico em fluídos corporais normalmente estéreis, tecidos obtidos por biópsias, peças operatórias, raspado de córnea, ponta de cateter, sangue e medula óssea deve ser imediatamente comunicado ao médico assistente.

10. Registros

Os espécimes clínicos devem ser registrados em seus respectivos cadernos (secreções, urina e líquidos corporais) para que tenham um número de registro para rastreamento. Após a realização da cultura os dado do andamento devem ser anotados no "Formulário de Monitoramento de Culturas para Fungos", que se encontra em anexo.

11. Controle de Qualidade

Na aquisição dos meios de cultura comercialmente produzidos, é observado se o produto tem registrado no ministério da saúde e a cada lote o fabricante fornece documento da certificação de qualidade para a produção. Para cada lote do meio adquirido, em cada tubo, deverá constar o nome do produto, número de lote, a data de fabricação e de validade e as condições de armazenamento e conservação.

A avaliação da precisão e exatidão do teste é conferido pelo teste de proeficiência dos meios cromogênicos, realizados pelo fabricante.

12. Notas adicionais

12.1 Ágar Sabouraud Dextrose

Meio com nutrientes que favorece o crescimento de diversos fungos leveduriformes e filamentosos. Utilidade: cultivo e crescimento de espécies de *Candida* e fungos filamentosos, particularmente associados a infecções superficiais.

12.2 Mycosel

Meio seletivo para fungos patogênicos contêm cicloheximida que inibe parcialmente, ou totalmente, fungos anemófilos e bactérias. Esses meios são indicados para cultivo de materiais coletados de lesões com suspeita de dermatofitose, para aumentar a sensibilidade no isolamento de dermatófitos. Deve-se ressaltar que essa substância poderá inibir o isolamento de fungos oportunistas, como *Aspergillus* sp., além de *Histoplasma capsulatum* na fase leveduriforme e certas leveduras patogênicas dos gêneros *Candida* e *Cryptococcus.*

12.3 Ágar Níger

Ágar semente de niger é um meio seletivo e diferencial utilizado para isolamento de *Cryptococcus neoformans*. O *Cryptococcus* apresenta um crescimento de colônias de pigmento marrom.

13. Referências Bibliográficas

1- Manual de Vigilância Laboratorial da Tuberculose e outras micobactérias – Ministério da Saúde, 2008.

2- Manual de Vigilância Sanitária sobre o Transporte de Material Biológico Humano para fim de Diagnósticos Clínicos – ANVISA, 2015.

Q. POP-MICO-012: CULTURA DE MICOBACTÉRIAS.

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	Laboratório de Análises Clínicas Hospital Eduardo de Menezes
Procedimento Operacional Padrão	Código: POP-MICO-12 Versão: 02
Cultura de Micobactérias	Setor:Microbiologia Folha 1 de 20

SUMÁRIO

1.	**Sinonímia e Símbolos**	**02**
2.	**Indicação médica**	**02**
3.	**Princípio e Método**	**02**
3.1	Princípio	**02**
3.2	Método	**02**
4.	**Amostra**	**03**
4.1	Tipo de Amostras	**03**
4.2	Preparo do paciente	**03**
4.3	Coleta	**03**
4.4	Armazenamento e estabilidade	**03**
4.5	Critérios de rejeição	**03**
5.	**Responsabilidades**	**03**
6.	**Materiais e Reagentes**	**03**
7.	**Equipamentos**	**04**
8.	**Procedimentos**	**04**
8.1	Procedimentos	**03**
8.2	Formatação	**04**
9.	**Resultados**	**07**
9.1	Valores de Referência	**07**
9.2	Cálculos	**07**
9.3	Interpretação Clínica	**07**
9.4	Valores Críticos	**07**
10.	**Registros**	**07**
11.	**Controle de Qualidade**	**07**
12.	**Notas adicionais**	**08**
13.	**Referências Bibliográficas**	**08**

CONTROLE HISTÓRICO						
REVISÃO	**DATA**	**Nº PÁGINAS**	**HISTÓRICO ALTERAÇÃO**	**ELABORAÇÃO**	**VERIFICAÇÃO**	**APROVAÇÃO**
00	06/07/2016	19	Emissão inicial	Vanessa C. R. Magalhães	Tatiane Maria Dutra Luciana da Silva Batista	Tayrine Araújo Santos
01	13/03/20	20	Revisão	Vanessa C. R. Magalhães	Vanessa C. R. Magalhães	Tayrine Araújo Santos

1. Sinonímia e Símbolos

Cultura de BK, cultura para o bacilo da Tuberculose, CBK.
CSB – Cabine de Segurança Biológica.
EPI's – Equipamentos de Proteção individual.
FUNED – Fundação Ezequiel Dias.
GAL – Gerenciador de ambiente laboratorial.
Meio LJ – Meio de cultura Lowenstein Jensen

2. Indicação Médica

- Diagnóstico da tuberculose pulmonar
- Diagnóstico da tuberculose extrapulmonar
- Diagnóstico das micobacterioses.

3. Princípio e Método

3.1 Princípio

Baseia-se na multiplicação e o isolamento de micobactérias a partir da semeadura da amostra clínica em meio de cultura específico para micobactérias. É um método sensível e específico para o diagnóstico das doenças causadas por micobactérias, principalmente para a tuberculose pulmonar e extrapulmonar.

O limite de detecção de bacilos da cultura é de 100 bacilos por milímetro de escarro, mas quando realizada com alta qualidade técnica é capaz de detectar de 10 a 100 bacilos cultiváveis por mililitros de escarro, sendo o método de referência para avaliar um novo método diagnóstico.

A cultura permite a posterior identificação da espécie de micobactéria isolada e o teste de sensibilidade, assim como a realização de várias técnicas moleculares.

3.2 Método

De maneira geral a cultura de micobactérias abrange 5 etapas:

(1) pré-tratamento das amostras clínicas: preparação das amostras, de acordo com suas características, para as demais etapas metodológicas;
(2) fluidificação-descontaminação: utiliza agentes químicos para homogeneizar a amostra clínica e eliminar outros micro-organismos contaminantes da mesma;
(3) semeadura em meio de cultura: proporciona o contato das micobactérias existentes na amostra com as substâncias nutritivas;
(4) incubação: fornece a temperatura correta e constante, necessária para a multiplicação das micobactérias;
(5) leitura dos tubos semeados e registro dos resultados: verifica a presença de colônias ou de turvação e/ou de contaminação, como sinal de presença de micobactérias e registra a ocorrência.

3.2.1 Método do Lauril Sulfato de Sódio

Utilizado em espécimes contaminadas, que devem ser tratadas com a finalidade de eliminar os microrganismos contaminantes, que, por se desenvolverem

muito mais rapidamente que as micobactérias, impedem a multiplicação destas. Esse tratamento é feito com agentes químicos aos quais as micobactérias são conhecidamente mais resistentes e, além disso, possibilita a digestão da matéria orgânica do material.

3.2.2 Método de Ogawa-Kudoh

Indicado para amostras de escarro espontâneo, esse método é de execução simples, rápida e fácil. Utiliza NAOH 4% como agente descontaminante e não requer o uso de centrífuga.

3.2.3 Método direto

Em espécimes não contaminadas o tratamento prévio não é necessário, desde que, os mesmos tenham sido colhidos assepticamente, e colocados em frascos estéreis. Os espécimes podem ser colocados diretamente no meio de cultura utilizado.

4. Amostra

4.1 Tipos de amostras

Escarro espontâneo, escarro induzido, aspirado traqueal, lavado brônquico, lavado gástrico, urina, líquidos assépticos (sangue, líquor, líquido pleural, ascítico, sinovial, pericárdico e peritoneal), material de ressecção, biópsia, medula óssea, secreções purulentas, aspirado de gânglios, aspirado de tumores e fezes.

4.2 Preparo do Paciente

Não se aplica.

4.3 Coleta

4.3.1 Escarro espontâneo

Ao despertar pela manhã o paciente deve lavar e bochechar bem a boca com água corrente, inspirar profundamente, deter por um instante o ar nos pulmões e lançá-lo para fora pelo esforço da tosse. Deve repetir essa eliminação até obter três eliminações de escarro, evitando que esse escorra pela parede externo pote. O paciente deve, então, tampar o pote firmemente, e, em seguida, colocá-lo em um saco plástico com tampa pra cima.

A coleta deve ser realizada em local arejado, ao ar livre, em pote plástico com tampa de rosca e boca larga.

4.3.2 Escarro induzido

Deve-se obter essa amostra a partir da inalação de solução salina hipertônica a 3%, aerossolizada, durante 5 a 20 minutos. No dia anterior a coleta o paciente deve ingerir bastante líquido e a coleta deve ser supervisionada pela equipe de fisioterapia.

4.3.3 Urina

Deve-se colher toda a urina da primeira micção da manhã em frasco limpo, de boca larga, após higiene íntima com água. Necessita-se de no mínimo 40 ml de volume total, para cada dia. Utiliza-se um número mínimo de três e máximo de seis amostras em dias consecutivos.

4.3.4 Fezes

Defecar em um recipiente limpo de boca larga ou sobre papel toalha. Usando uma pazinha, coletar várias porções das fezes e colocar em frasco plástico de boca larga e tampa de rosca.

4.3.5 Pus e secreções

Quando proveniente de cavidade fechado deve ser colhidos através de punção, por pessoal médico, e colocado em fraco estéril. Quando o material for de

cavidade aberta deve ser colhido através de swab, que deve ser imerso em solução salina.

4.3.6 Lavado gástrico, lavado brônquico, líquidos assépticos e biópsias

Devem ser colhidos assepticamente por pessoal médico no maior volume possível e colocados em frasco estéril, sem formol.

4.3.7 Sangue e Aspirado de Medula Óssea

Não necessitam de descontaminação. Inocular diretamente 0,2 mL em um tubos de LJ, no momento da coleta.

4.4 Armazenamento e Estabilidade

Tempo e temperatura de transporte e armazenamento		
Amostra biológica	**Transporte**	**Armazenamento e estabilidade**
Escarro espontâneo	≤ 2 horas a temperatura ambiente, ao abrigo da luz.	≤ 7 dias a 4ºC.
Escarro induzido	≤ 2 horas a temperatura ambiente, ao abrigo da luz.	≤ 7 dias a 4ºC.
Lavado Brônquico, escovado brônquico, lavado bronco-alveolar e aspirado traqueal	≤ 2 horas a temperatura ambiente, ao abrigo da luz.	≤ 24 horas a 4ºC.
Fragmentos de tecidos pulmonares	≤ 2 horas a temperatura ambiente, ao abrigo da luz.	≤ 24 horas a temperatura ambiente. >24 horas,congelar.
Lavado gástrico	≤ 15 minutos a temperatura ambiente ou neutralizar em 1 hora de coleta.	≤ 4 horas a 4ºC.
Urina	≤ 2 horas a temperatura ambiente.	≤ 4 horas a temperatura ambiente, ou centrifugar e armazenar o precipitado neutralizado a 4ºC.

Líquido Cefalorraquidiano (LCR)	≤ 15 minutos a temperatura ambiente.	≤ 24 horas a temperatura ambiente.
Líquido pleural, líquido sinovial e líquido peritoneal	≤ 15 minutos a temperatura ambiente.	≤ 24 horas a temperatura ambiente.
Fragmentos cutâneos e ósseos	≤ 15 minutos a temperatura ambiente.	≤ 24 horas a temperatura ambiente.
Fragmentos de órgãos	≤ 15 minutos a temperatura ambiente.	≤ 24 horas a temperatura ambiente.
Medula óssea	≤ 2 horas a temperatura ambiente.	≤ 24 horas a temperatura ambiente.
Pus e secreções	≤ 2 horas a temperatura ambiente.	≤ 24 horas a temperatura ambiente.
Fezes	≤ 1 horas a temperatura ambiente.	≤ 24 horas a 4ºC.

4.5 Critérios de Rejeição

- Material clínico coletado, rotulado e transportado de maneira inadequada.
- Material coleta em recipiente não íntegro.
- Pool de amostras de urina colhidas em 24 horas.
- Volume de urina inferior a 40 mL.
- Menos de 3 amostras de urina coletadas.
- Aspirado de medula óssea congelado.
- Aspirado de medula óssea coletado em anticoagulante EDTA.

5. Responsabilidades

Técnicos de patologia e Farmacêuticos bioquímicos.

6. Materiais e Reagentes

- Luvas de procedimento
- Jaleco de tecido

- Jaleco descartável
- Touca descartável
- Máscara N95
- Óculos de proteção
- Solução de Lauril Sufato de Sódio + NAOH – **solução A**
- Solução Neutralizante (ácido fosfórico+azul de bromotimol) – **solução B**
- Solução de álcool a 70%
- Solução de fenol a 5%
- Papel absorvente;
- Tubos de Falcon;
- Estante para tubos;
- Pipetas de 10ml e 1 ml descartáveis;
- Recipiente de vidro fundo e de boca larga para descarte de material a ser autoclavado e descartado;
- Meio de cultura Lowenstein Jensen (LJ);
- Fita de PH;
- Bandeja para incubação dos tubos semeados.

7. Equipamentos

- Cabine de segurança biológica classe II B;
- Centrífuga refrigerada com rotor para tubos de 50 ml (Tubo de Falcon);
- Agitador mecânico;
- Estufa bacteriológica;
- Cronômetro;
- Pipetador automático ou manual.

8. Procedimentos

8.1 Pré-tratamento das amostras clínicas

Amostra Clínica	Procedimento Pré-Tratamento
Escarro espontâneo; Escarro induzido; lavado brônquico; lavado broncoalveolar (LBA); aspirado transtraqueal; lavado gástrico	Transferir a amostra e solução para tubos de centrífuga (Falcon) e centrifugar durante 15 minutos a 4.200 rpm. Desprezar o sobrenadante e proceder à cultura conforme o método escolhido.
Urina	Executar o mais rapidamente possível. Amostras com mais de 50 ml de volume devem ser distribuídas em vários tubos de centrífuga, e centrifugado por 15 minutos a 4.200 rpm. Desprezar os sobrenadantes, juntar os sedimentos num único tubo de centrífuga e proceder à cultura conforme o método escolhido
Líquidos: pleural, sinovial, peritonial, pericárdico, ascítico e líquido e cefalorraquidiano (LCR)	Transferir a amostra para tubos de centrífuga e centrifugar por 15 minutos a 4.200 rpm. Desprezar os sobrenadantes, juntar os sedimentos num único tubo de centrífuga e proceder à cultura conforme o método escolhido. Quando coletadas assepticamente, semear diretamente nos meios de cultura escolhidos. Entretanto, caso seja desconhecida a qualidade da coleta, é recomendável semear metade da amostra diretamente nos meios de cultura e descontaminar a outra metade conforme o método escolhido.
Fragmentos de órgãos	Quando proveniente de órgãos sem microbiota associada, macerar com a ajuda de um bisturi com um pouco de água ou salina estéreis, até a formação de uma suspensão homogênea. Dividir a suspensão obtida, e semear metade diretamente nos meios de cultura, e a outra metade descontaminar conforme o método escolhido.

Fragmentos cutâneos e de ossos	Macerar utilizando bisturi com um pouco de água ou salina estéreis, até a formação de uma suspensão homogênea. Misturar bem e proceder à descontaminação conforme o método escolhido.
Medula óssea e Sangue	Não necessitam de descontaminação. Inocular diretamente 0,2 mL em um tubo de LJ, no momento da coleta.
Aspirados de gânglios e de tumores (cavidades fechadas)	Quando coletados assepticamente não descontaminar, podendo todo o volume ser inoculado diretamente nos meios de cultura escolhidos. Entretanto, caso seja desconhecida a qualidade da coleta, é recomendável semear metade da amostra diretamente nos meios de cultura e descontaminar a outra metade conforme o método escolhido.
Pus e secreções (cavidades abertas)	Atritar o *swab*, imerso em água destilada ou solução salina estéreis, contra a parede do tubo para liberar a amostra clínica nele contida. Descartar o *swab* e descontaminar a suspensão obtida conforme o método escolhido. Caso o *swab* não tenha sido encaminhado imerso em água destilada ou solução salina estéreis, acrescentar um dos referidos líquidos ao mesmo e proceder como descrito anteriormente.

8.2 Fluidificação e descontaminação com Lauril Sulfato de Sódio

Todo o processo abaixo deve ser realizado dentro da CSB.

1. Organizar os materiais que serão utilizados em um dos lados da bancada da CSB e colocar os recipientes de descarte do outro lado;
2. Forrar a capela com papel absorvente e álcool 70%;

3. Colocar as amostras que serão descontaminadas de acordo com o número de ordem de registro;
4. Colocar em cima do papel somente o pote da amostra que será processada;
5. Transferir 2 ml da parte mais purulenta do espécime para o tubo de Falcon de 50 ml , deixando-o escorrer suavemente pela parede interna do tubo, cuidando para não derramar;
6. Colocar o tubo de centrífuga contendo a amostra em uma estante;
7. Repetir esse procedimento para todas as amostras;
8. Adicionar 3ml da solução A, com uma pipeta estéril, para fluidificar o escarro. Usar uma pipeta para cada amostra;
9. Agitar periodicamente por 30 minutos, ou seja, de 10 em 10 minutos por 30 segundos no vórtex;
10. Juntar a solução B até o aparecimento de cor esverdeada (azul de bromotimol) .O pH poderá ser medido com o auxílio de tira de pH, devendo ser ajustado para 7.0;
11. Centrifugar a 4.200 rpm por 30 minutos;
12. Aguardar 5 minutos para abrir a centrifuga;
13. Desprezar o sobrenadante em recipiente com tampa e boca larga, contendo solução de fenol a 5 % no fundo.
14. Agitar no vortex
13. Semear o sedimento em volumes de 100 µl (0,1 mL) em dois tubos de meio de cultura Lowenstein Jensen.

8.3 Fluidificação e descontaminação pelo método de Ogawa-Kudoh

1. Colocar dentro da cabine apenas os potes com amostras que serão processadas (no máximo 5 amostras por vez);
2. Abrir lentamente o pote da amostra a ser processada;
3. Introduzir o swab no frasco de amostra, homogeneizar e girar cuidadosamente dentro da amostra até que o mesmo fique impregnado com a porção mais purulenta;
4. Inserir o swab impregnado com a amostra no frasco de NAOH 4% previamente identificado sem encostar na parede do recipiente, e deixar em repouso por 2 minutos.

5. Após esse tempo, passa o swab sobre a superfície do meio Ogawa Kudoh (2 tubos) mediante movimentos rotatórios e em zigue zague de maneira a espalhar bem o inóculo.

8.4 Incubação

Os tubos semeados devem ser colocados em estantes, na posição horizontal, com as tampas afrouxadas, em estufa a 36ºC +/- 1ºC, durante dois dias. Após este prazo, avaliar se houve contaminação da cultura. Descartar as culturas contaminadas e vedar os tubos das culturas não contaminadas. Deixar mais cinco dias na posição horizontal.

8.5 Leitura

8.5.1 Após 48 horas de incubação

1. Fechar os tubos rosqueando as tampas completamente.
2. Verificar a secagem do inoculo e a presença de contaminação (presença de colônias microbianas – bactérias ou fungos) pela mudança de coloração ou liquefação dos meios, sendo que a cor esbranquiçada indica alcalinização e a cor verde intensa indica acidificação. Quando presentes, descartar o tubo. Se todos os tubos estiverem contaminados e não existir mais a amostra, registrar no Caderno de Culturas para Micobactérias" e emitir o laudo no sistema Infolab como **"Cultura interrompida devido contaminação".**
3. Voltar a incubar os tubos em que não houve contaminação ou alteração do meio.

8.5.2 Leituras semanais

1. Registrar a leitura semanal no "Formulário de Monitoramento de Culturas para Micobactérias" com todas as observações, referentes a cada tubo de cultura de cada amostra, como: data da leitura, número de colônias visualizadas de acordo com a escala semi-quantitativa descrita abaixo, características morfológicas das colônias em relação à presença de pigmento, aspecto (lisa ou rugosa) e contaminação parcial ou total de cada tubo.

ESCALA SEMIQUANTITATIVA	
RESULTADO	**NÚMERO DE COLÔNIAS**
+++	Colônias Confluentes
++	Colônias Separadas (mais de 100)
+	20 a 100 colônias
Número	Número de colônias
0	Sem crescimento
C	Contaminado

2. Incubar novamente os tubos em que não são visualizadas colônias, realizar as leituras nas próximas semanas até completar oito semanas. Permanecendo negativos na oitava semana, desprezar os tubos e registrar no "Formulário de Monitoramento de Culturas para Micobactérias" e emitir o resultado no sistema Infolab como **"Não houve crescimento após 60 dias de incubação".**

8.5.3 Avaliação do crescimento

1. Crescimento em 7 a10 dias, considerar Micobactérias de crescimento rápido.
2. Após 30 dias de incubação, havendo visualização de mais de 20 colônias de cor creme e rugosas, em um ou mais dos tubos consultar a escala semi-quantitativa para a interpretação dos resultados, levando em conta o número de colônias visualizadas. A seguir, registrar todas as informações observadas no "Formulário de Monitoramento de Culturas para Micobactérias" e emitir o resultado no sistema Infolab como **"Houve crescimento de colônia sugestiva de *Mycobacterium tuberculosis*. Amostra encaminhada para a FUNED para identificação e teste de susceptibilidade".**
3. Após 60 dias de incubação, realizar os mesmos procedimentos acima, mas encaminhar também as amostras com crescimento inferior a 20 colônias. **"Houve crescimentode colônia sugestiva de *Mycobacterium tuberculosis*. Amostra encaminhada para a FUNED para identificação e teste de susceptibilidade".**

4. As amostras sem crescimento após 60 dias de incubação liberar o resultado no Infolab. **"Não houve crescimento após 60 dias de incubação."**

As colônias típicas de *M. tuberculosis* apresentam cor creme, são rugosas, desenvolvem-se na superfície do meio e não alteram a cor do LJ.

8.5.4 Encaminhamento de culturas para o laboratório de apoio

Culturas positivas devem ser encaminhadas ao laboratório de apoio para identificação da espécie e realização do teste de sensibilidade. Para isso deve-se:

1. Preencher no "Formulário de Encaminhamento de Amostras – Micobactérias" os itens procedência, informações do paciente, amostras e exames solicitados e encaminhá-los.
2. Cadastrar no sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial – GAL a requisição dos exames.
3. Verificar se os tubos estão corretamente identificados com o nome completo do paciente, número de registro, material e data do processamento.
4. Embalá-los em sacos plásticos individuais e acondicioná-los em embalagem apropriada, conforme descrito no item 12.2.
5. Encaminhar para FUNED, junto ao "Formulário de Encaminhamento de Amostras – Micobactérias" corretamente preenchido e a requisição impressa do sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial – GAL.
6. Os tubos liberados e todo material utilizado para a descontaminação devem ser autoclavados antes do descarte final em lixo infectante A1.

8.6 Importante

Observar as normas de biossegurança e o uso de equipamentos de proteção individual. Muitas das técnicas geram aerossóis, que podem conter bacilos no seu interior, como a preparação de esfregaços, pipetagem de líquidos, agitação de espécimes e suspensões bacterianas, a quebra de tubos durante a centrifugação e a transferência de culturas em meio líquido ou de fluídos sobrenadantes;

Neste processo, o tempo de contato do agente químico com o espécime, assim como a concentração do agente químico, a neutralização e a centrifugação (força centrífuga e tempo), são procedimentos críticos para o isolamento de micobactérias;

Não ultrapassar o tempo de 30 minutos de descontaminação para neutralizar, pois pode haver morte do bacilo;

Descartar as pipetas contaminadas, ainda dentro da CSB, mergulhando as pipetas por completo, horizontalmente, em recipiente inquebrável contendo hipoclorito à 2%. Esterilizar o recipiente com as pipetas em autoclave.

Não encostar a pipeta na parede do tubo de Falcon, para não ocorrer a contaminação do descontaminante ou neutralizante com a amostra biológica.

9. Resultados

9. Valores de Referência

"Não houve crescimento após 56 dias de incubação."

9.2 Cálculos

Não se aplica.

9.3 Interpretação Clínica

Resultados de culturas positivas são indicativos de tuberculose pulmonar, tuberculose extrapulmonar ou micobacteriose atípica. Porém o diagnóstico só é possível após identificação da espécime no laboratório de apoio.

9.4 Valores Críticos

Não se aplica.

10. Registros

Elaborado por: Vanessa C. Magalhães	Verificado por: Vanessa C. R. Magalhães	Aprovado por: Tayrine Araújo Santos	Versão 02
Data: 27/07/2016	Data: 16/03/2020	Data: 18/03/2020	

Os espécimes clínicos devem ser registrados em seus respectivos cadernos (secreções, urina e líquidos corporais) para que tenham um número de registro para rastreamento. Após a realização da cultura os dados do andamento devem ser anotados no "Formulário de Monitoramento de Culturas para Micobactérias", que se encontra em anexo.

11. Controle de Qualidade

Na aquisição dos meios de cultura comercialmente produzidos, é observado se o produto tem registro no Ministério da Saúde e a cada lote o fabricante fornece documento da certificação de qualidade para a produção. Para cada lote do meio adquirido, em cada tubo, deverá constar o nome do produto, número de lote, a data de fabricação e de validade e as condições de armazenamento e conservação.

A qualidade dos reagentes adquiridos para fluidificação e descontaminação é avaliada através do controle de qualidade da descontaminação das espécimes, feito mensalmente para avaliar o percentual de culturas contaminadas, através das anotações realizadas no "Caderno de de Culturas para Micobactérias".

É calculado mensalmente com a porcentagem de tubos contaminados entre o total de tubos semeados. A margem aceitável é de 3 a 5%.

Valores baixos indicam uma descontaminação excessivamente drástica, exposição longa da amostra ou concentração alta de verde malaquita no meio de cultura. Valores altos podem indicar concentração muito baixa do reagente descontaminante, tempo curto de contato, amostra mal conservada no transporte ou armazenamento, tempo muito longo entre a coleta e processamento, presença de contaminantes no ambiente laboratorial e ou na estufa de cultura (geralmente fungos ambientais).

12. Notas adicionais

12.1 Transporte intra-laboratorial de amostras clínicas

As amostras clínicas e resíduos infectantes da cultura devem ser transportadas, intra-laboratorialmente, em caixas próprias com tampa, identificadas com o símbolo de risco biológico. Devem ser de material não poroso, rígido, resistente à descontaminação. Ao transportar amostras potencialmente patogênicas deve-se escolher o caminho menor e com menos obstáculos. O profissional responsável pelo transporte das amostras deve estar usando avental e luvas.

12.2 Transporte inter-laboratorial de amostras clínicas e culturas

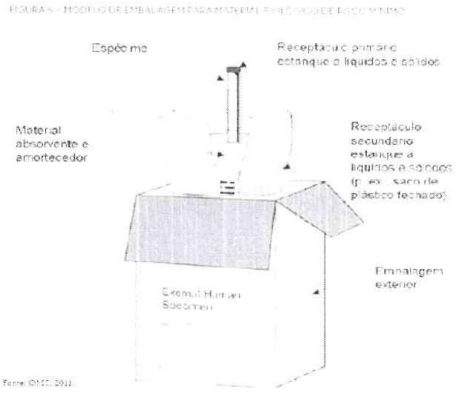
O material biológico classificado nesta categoria deve receber a marcação UN 3373: "substância biológica da categoria B".

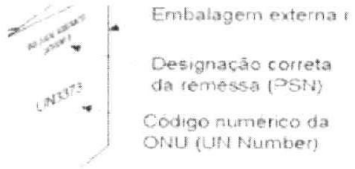


Amostras biológicas para diagnóstico devem ser acondicionadas em embalagens de boa qualidade, as quais devem ser suficientemente resistentes para suportar os impactos e os carregamentos normalmente enfrentados durante o transporte, incluindo transbordo e armazenamento, bem como a subseqüente movimentação manual ou mecânica. As embalagens devem ser construídas e fechadas de modo a evitar qualquer perda de conteúdo que possa ser causada em condições normais de transporte, por ação de vibração, ou por mudanças de temperatura, umidade ou pressão.

O sistema de embalagens deve ser constituído por três componentes:

a) embalagem (ns) primária(s): recipientes que entram em contato direto com o material biológico. Ex.: tubos de coleta;
b) embalagem secundária, com capacidade para envolver e conter a (s) embalagem(ns) primária(s). Ex.: saco plástico;PVC; papel absorvente.
c) embalagem externa: recipientes com rigidez adequada. Pode ser constituída por papelão, PVC, metal e outros. No transporte terrestre, uma das embalagens – secundária ou externa – deve ser rígida.





12.3 Formulário de Monitoramento de Culturas para Micobactérias – Anexo 1

12.4 Formulário de Monitoramento do Índice de Contaminação de Culturas para Micobactérias- Anexo 2

12.5 Formulário de Encaminhamento de Amostras – Micobactérias – Anexo 3

12.6 Procedimentos em casos de acidentes

- **Quando houver acidentes onde haja derrame de material biológico deve-se adotar os seguintes procedimentos:**

1. Solicitar as pessoas que estiverem na sala para sair imediatamente.
2. Utilizando os EPI'S (inclusive máscara N 95), cobrir imediatamente o material biológico derramado com material absorvente para limitar a área afetada e minimizar a produção de aerossóis.
3. Utilizar qualquer material disponível como, por exemplo, toalhas de papel.
4. Derramar, sobre o material biológico já coberto, Solução de Fenol a 5%, deixar em repouso e sair imediatamente da sala.
5. Esperar pelo menos 20 minutos para que o desinfetante possa agir. No caso de culturas positivas de BK, aguardar 2 horas. Desligar ar condicionado e abrir as janelas.
6. Recolher com um papel-toalha os materiais envolvidos no acidente (inclusive o material usado na limpeza), colocar tudo dentro um saco de lixo autoclavável.

- **Quando houver quebra de tubos contendo cultura líquida, respingo de amostras clínicas ou de cultura líquida dentro da CSB, devem-se adotar os seguintes procedimentos:**

1. Manter a CSB ligada, para conter os aerossóis que possam ser formados.
2. Iniciar a limpeza o mais rápido possível utilizando o desinfetante apropriado (recomenda-se utilizar Solução de Fenol a 5%).
3. Caso o derramamento ocorra em um recipiente, o mesmo deve ser descartado como material infeccioso.
4. Se o derramamento ocorrer na superfície de trabalho, cobrir o material derramado com papel-toalha, e derramar sobre o material biológico já coberto, Solução de Fenol a 5%, deixar em repouso por no mínimo 20 minutos para remover o papel-toalha e descartá-lo como material infeccioso.
5. Os materiais que estiverem dentro da CSB no momento do derramamento só deverão ser retirados após 20 minutos do acidente, tendo sido desinfetados com Solução de Fenol a 5%, antes de retirar da CSB. Dependendo do material deverá ser autoclavado em seguida.
6. Os EPI utilizados para a realização da limpeza deverão ser autoclavados.

7. Após a limpeza, a CSB deverá ficar ligada por mais 10 minutos com a lâmpada de ultravioleta ligada.

12. Plano de Contingência

Quando houver algum problema nos equipamentos utilizados na cultura de micibactérias, impossibilitando a cultura, as mesmas deverão ser encaminhadas para o Hospita Júlia kubitschek ou FUNED. As orientações de envio serão repassadas pelo coordenador do setor, conforme o combinado com o local de suporte.

13. Referências Bibliográficas

- Manual de Vigilância Laboratorial da Tuberculose e outras micobactérias – Ministério da Saúde, 2008.
- Manual de Vigilância Sanitária sobre o Transporte de Material Biológico Humano para fim de Diagnósticos Clínicos – ANVISA, 2015.
- Bula do Kit Ogawa Kudoh – FUNED.

ANEXO 06: FLUXOS DE ROTINAS DA MICOLOGIA.

A. ROTINA DIÁRIA

ROTINAS MICOLOGIA

Início partir do dia 01/09/2019

Horário	Atividades
07:00 às 09:00	Anotar temperaturas estufas e geladeiras
07:00 às 09:00	Limpar as bancadas do setor
07:00 às 09:00	Atualizar planilhas de rastreabilidade de corantes e reagentes
07:00 às 09:00	Fazer lista de requisição
07:00 às 09:00	Conferir amostras para enviar laboratório apoio de anatomopatológicos.
07:00 às 09:00	Buscar materiais de requisição na microbiologia
07:00 às 09:00	Registrar os pedidos de pesquisas LTA e FUNGOS nos cadernos
07:00 às 09:00	Corar lâminas
07:00 às 09:00	Preparar EMD
07:00 às 09:00	Dar baixa no caderno dos laudos entregues
09:00 às 9:30	Receber transporte de anátomopatológicos
10:00 às 10:30	Receber biópsias do bloco
10:30 às 11:00	Receber biópsias do ambulatório
11:00 às 13:00	Registrar as amostras no caderno
11:00 às 13:00	Coleta e atendimento de paciente
13:00 às 14:00	Almoço
14:00 às 17:30	Coleta e atendimento de paciente
17:30 às 19:00	Atualizar cadernos de René Rachou
17:30 às 19:00	Separar e encaminhar PCR de LTA
17:30 às 19:00	Separar e encaminhar PCR de hanseníase
17:30 às 19:00	Separar e encaminhar culturas de BK

OBS: ESTATÍSTICA NO ÚLTIMO DIA DO MÊS.

Magalhães

1

B. FLUXO IMUNOHISTOQUÍMICA.

Fluxo Imunohistoquímica (1)

1) Receber o pedido médico do exame realizado no laboratório com contrato.

2) Verificar se o pedido está realizado no SIGH.

3) Verificar se há o número da lâmina no pedido.

4) Perguntar ao médico se a imunohistoquímica foi recomendada no anatomopatológico (AP).

5) Conferir no laudo, se estiver recomendado no AP o exame está autorizado.

6) Caso não esteja recomendado, o exame deverá ser assinado pelo médico preceptor e JUSTIFICADO o motivo.

7) Fora dessas situaçãoes o exam e não deverá ser encaminhado sem a autorização prévia da chefia do setor e com o consentimento da chefia do laboratório

Atenciosamente,

Vanessa 03/12/2019

C. FLUXO DE PEDIDO DE FRASCOS CYTOGENESIS.

Fluxo Frascos Cytogenesis (2)

1) O pedido dos frascos deverá ser feito via e-mail nos endereços: atendimentocytogenesis@gmail.com e cópia para cytogen@terra.com.br.

2) Conferir a quantidade entregue, colar o papel no caderno.

3) Ao fornecer os frascos para a enfermagem e protocolar no caderno a quantidade dispensada.

Atenciosamente,

Lucina

Vanessa 03/12/2019

D. FLUXO REQUISIÇÃO DE MATERIAIS.

Fluxo Requisição de Materiais

1) Realizar requisição às segundas-feiras

2) O formulário impresso fica na pasta do setor, caso não tenha imprimir > lab-secretaria> computador Positivo 21524432 > planilhas micologia

3) Sandra colocar os materias de BK

4) Lucina e Maria solicitar os demais materias

5) Entregar a requisição na secretaria

6) A requisição é feita às terças-feiras e chega nas quartas.

7) Quarta-feira buscar os materias no laboratório

OBS: Materiais como luvas, descarpack, avental e frascos de urina não é necessário requisitar mas devem ser buscados no laboratório.

Atenciosamente,

Vanessa 09/01/2020

Guazalhas

E. FLUXO DE LIMPEZA DO SETOR.

Fluxo Limpeza do Setor

A limpeza do setor é responsabilidade de todos os funcionários do setor.

Sandra será responsável pela limpeza da capela, centrífuga e bandeja de dentro da capela. Manter esta bandeja dentro da capela.

Lucina e Maria serão responsáveis pela limpeza das bandejas de coleta, de recebimento de materias, prateleiras, caixas de plásticos, maleta de coleta e bancada. Observar a validade dos itens autoclavados e materias utilizados na coleta.

As caixas de resíduos, caixas de frascos com amostras deverão ser limpas pelo menos 1 vez ao mês. Solicitar Ivanilda na primeira sexta do mês.

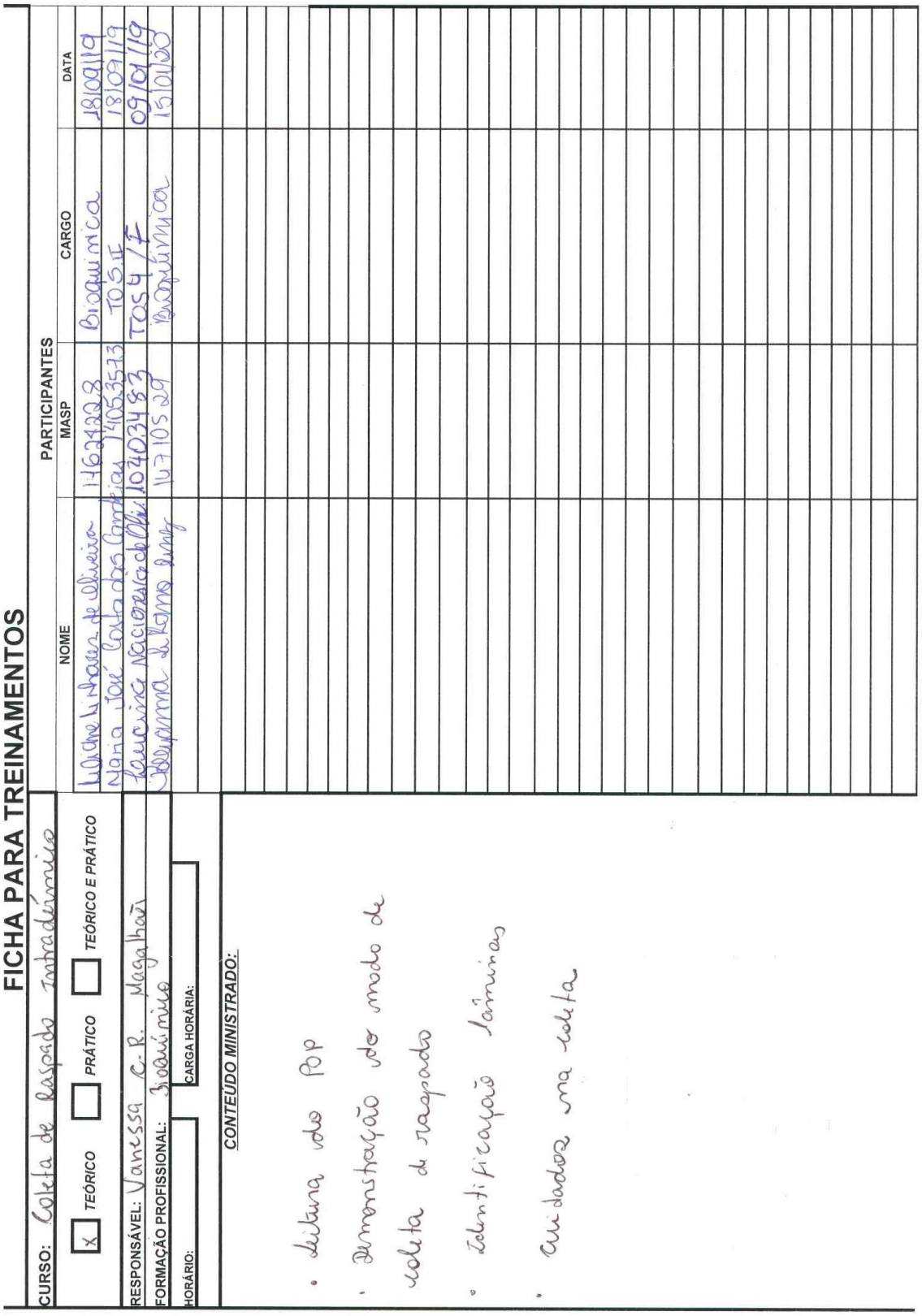
Vanessa será responsável pela limpeza do microscópio, mesa e computador com mesa.

Já foi acertado com MGS para nos auxiliar na limpeza às sexta-feiras. Assim com excessão da Sandra. quem estiver no setor auxiliar, desocupando as prateleiras para o funcionário da MGS limpar. Lembrar de limpar as caixas de plásticos.

Vanessa
09/01/2020

ANEXO 07: TREINAMENTO DOS PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO.

A. TREINAMENTO POP-MICO-001.



FICHA PARA TREINAMENTOS

CURSO: Coleta de Raspado Intradérmico

[X] TEÓRICO [ ] PRÁTICO [ ] TEÓRICO E PRÁTICO

RESPONSÁVEL: Vanessa C. R. Magalhães

FORMAÇÃO PROFISSIONAL: Biomédica

HORÁRIO: CARGA HORÁRIA:

CONTEÚDO MINISTRADO:

- leitura do POP
- Demonstração do modo de coleta do raspado
- Identificação lâminas
- cuidados na coleta

PARTICIPANTES			
NOME	MASP	CARGO	DATA
Luciane Linhares de Oliveira	1162328-8	Biomédica	18/09/19
Nana José Costa dos Santos	1405353-3	TOSF	18/09/19
Leucina Nascimento de Oliveira	1040348-3	TOSF	09/10/19
Benjamin Alcântara Lima	1137105-20	Biomédica	15/10/20

FICHA PARA TREINAMENTOS

CURSO: Coloração Método Ziehl- Neelsen a Frio

☒ TEÓRICO ☐ PRÁTICO ☐ TEÓRICO E PRÁTICO

RESPONSÁVEL: Vanina C. R. Magalhães

FORMAÇÃO PROFISSIONAL: Bioquímico

CARGA HORÁRIA: _____

CONTEÚDO MINISTRADO:

- Coloração

PARTICIPANTES

NOME	MASP	CARGO	DATA	HORÁRIO
Liliane Linhares de Oliveira	14627228	Bioquímica	18/09/19	14:00
Maria José Costa Vandesmas	14053573	TOS II	18/09/19	15:12
[illegible]	9296591	TOS II	20/09/19	18:20
Lucina N. Oliveira	10403483	TOS 4/F	09/01/20	12:30
Poliana Rocha Dias	147 10529	Bioquímica	15/01/20	16:20

FHEMIG

HOSPITAL EDUARDO DE MENEZES

LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS

FICHA PARA TREINAMENTOS

CURSO: Coloração EMD Leishmaniose

☒ TEÓRICO ☐ PRÁTICO ☐ TEÓRICO E PRÁTICO

RESPONSÁVEL: Vanessa C. R. Magalhães

FORMAÇÃO PROFISSIONAL: Bioquímica

CARGA HORÁRIA: _____

CONTEÚDO MINISTRADO:

- Técnicas de coloração
  - GIEMSA
  - Panótico

PARTICIPANTES

NOME	MASP	CARGO	DATA	HORARIO
Luciana N. Oliveira	1040348-2	TOS 4 / F	09/01/20	12:30
Rayanna L. Vilas Boas Luiz	147 10529	Bioquímica	15/01/20	16:00

FHEMIG

HOSPITAL EDUARDO DE MENEZES

LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS

FICHA PARA TREINAMENTOS

CURSO: Fluxo de Anatomopatológico

☒ TEÓRICO ☐ PRÁTICO ☐ TEÓRICO E PRÁTICO

RESPONSÁVEL: Janara

FORMAÇÃO PROFISSIONAL: Bioquímica

CARGA HORÁRIA: _____

CONTEÚDO MINISTRADO:

Leitura POP-MICO-05

PARTICIPANTES

NOME	MASP	CARGO	DATA	HORÁRIO
Liliane Linhares de Oliveira	1460228	Bioquímica	16/09/19	18:00
Maria José Costa Cardoso	1405357 3	TOS II	16/09/19	18:00
[illegible]	9996591	TOS II	01/10/19	18:00
Luana N Oliveira	10403483	TOS 4/F	03/01/19	18:00
Poliana Rodrigues Lima	1471052 9	Bioquímica	15/01/20	16:20

FHEMIG

HOSPITAL EDUARDO DE MENEZES

LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS

FICHA PARA TREINAMENTOS

CURSO: Fluxo Revisão de lâmina

☒ TEÓRICO ☐ PRÁTICO ☐ TEÓRICO E PRÁTICO

RESPONSÁVEL: Vanessa

FORMAÇÃO PROFISSIONAL: Bioquímica

CARGA HORÁRIA: _____

CONTEÚDO MINISTRADO:

POP - Mico - 06

Fluxo revisão lâmina

PARTICIPANTES

NOME	MASP	CARGO	DATA	HORÁRIO
Liliane Barbosa de Oliveira	14629223	Bioquímica	16/09/19	13:00
Maria José Costa Candeias	14053573	TOS II	16/09/19	18:00
[illegible]	9296591	TOS II	01/10/19	18:00
Luciana N. Oliveira	10403483	TOS 4 F	09/01/20	12:30
Helyanna Rodrigues	10710529	Bioquímica	15/01/20	16:00

F. TREINAMENTO POP-MICO-007.

FHEMIG

HOSPITAL EDUARDO DE MENEZES

LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS

FICHA PARA TREINAMENTOS

CURSO: Leitura do Pop-Mico-007

☒ TEÓRICO ☐ PRÁTICO ☐ TEÓRICO E PRÁTICO

RESPONSÁVEL: Vanuza

FORMAÇÃO PROFISSIONAL: Biquímico

CARGA HORÁRIA: _____

CONTEÚDO MINISTRADO:

Leitura do procedimentos utilizados na coleta de Rapados clínicos.

PARTICIPANTES				
NOME	MASP	CARGO	DATA	HORÁRIO
Lucina N. Oliveira	1049034963	Lucina	07/01/20	12:30
Vanuza L. Vieira Silva	1031059	Biquímico	15/01/20	18:00

ANEXO 08: TREINAMENTOS E CAPACITAÇÕES AUTORA DO PROJETO.

A. CAPACITAÇÃO EM MICOBACTÉRIAS, FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS 2016.

FUNED Fundação Ezequiel Dias

FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS
INSTITUTO OCTÁVIO MAGALHÃES
Divisão de Epidemiologia e Controle de Doenças
Serviço de Doenças Bacterianas e Fúngicas
Rua Conde Pereira Carneiro, 80 Belo Horizonte – MG
CEP: 30510-010 Tel: (31) 3314 4667 / 4659 Fax: (31) 3314 4669

I O M INSTITUTO OCTAVIO MAGALHÃES

27

DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que o(a) profissional **Vanessa Caroline Randi Magalhães**, do laboratório do Hospital Eduardo de Menezes, participou da "Capacitação em cultura de micobactérias para profissionais da rede de laboratórios de Minas Gerais", promovido pelo Diagnóstico de Micobactérias / Serviço de Doenças Bacterianas e Fúngicas na Fundação Ezequiel Dias, em 29 de setembro de 2016, de 08:00 às 17:00horas, com carga horária de 8 horas.

Belo Horizonte, 29 de setembro de 2016.

Carmem Dolores Faria
Chefe
Serviço de Doenças Bacterianas e Fúngicas
Divisão de Epidemiologia e Controle de Doenças
Instituto Octávio Magalhães
Fundação Ezequiel Dias

Cláudio José Augusto
Diagnóstico de Micobactérias
Serviço de Doenças Bacterianas e Fúngicas
Divisão de Epidemiologia e Controle de Doenças
Instituto Octávio Magalhães
Fundação Ezequiel Dias

1 de 1

28

FUNED Fundação Ezequiel Dias

FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS
INSTITUTO OCTÁVIO MAGALHÃES
Divisão de Epidemiologia e Controle de Doenças
Serviço de Doenças Bacterianas e Fúngicas
Rua Conde Pereira Carneiro, 80 Belo Horizonte – MG
CEP: 30510-010 Tel: (31) 3314 4667 / 4659 Fax: (31) 3314 4669

I O M INSTITUTO OCTAVIO MAGALHÃES

DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que o(a) profissional **Vanessa Caroline Randi Magalhães**, do laboratório do Hospital Eduardo de Menezes, participou da "Capacitação em cultura de micobactérias para profissionais da rede de laboratórios de Minas Gerais" (Parte prática), promovido pelo Diagnóstico de Micobactérias / Serviço de Doenças Bacterianas e Fúngicas na Fundação Ezequiel Dias, em 06 e 07 de outubro de 2016, de 08:00 às 17:00horas, com carga horária de 16 horas.

Belo Horizonte, 11 de outubro de 2016.

Carmem Dolores Faria
Chefe
Serviço de Doenças Bacterianas e Fúngicas
Divisão de Epidemiologia e Controle de Doenças
Instituto Octávio Magalhães
Fundação Ezequiel Dias

Cláudio José Augusto
Diagnóstico de Micobactérias
Serviço de Doenças Bacterianas e Fúngicas
Divisão de Epidemiologia e Controle de Doenças
Instituto Octávio Magalhães
Fundação Ezequiel Dias

B. DISCIPLINA ISOLADA DE MICOLOGIA CLÍNICA, FACULDADE DE FARMÁCIA DA UFMG 2016.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE REGISTRO E CONTROLE ACADÊMICO

Emissão
06/12/2017
11:05

CERTIFICADO

Certifico, nos termos do artigo 47 - seção IV - do Regimento Geral da UFMG, que VANESSA CAROLINE RANDI MAGALHAES, número de registro 2016737900, foi aprovado(a) na(s) atividade(s) cursada(s) como isolada(s) no segundo semestre de 2016, abaixo relacionada(s):

ATIVIDADE	Carga Horária	Créditos	Pontos
DIG ACT072 TBN - MICOLOGIA CLINICA	45	03	98.0

Belo Horizonte, 6 de dezembro de 2017.

Chefe da Seção de Ensino ou DRCA

Profª Cristiane Alves da Silva Menezes
Coordenadora do Colegiado do Curso de Biomedicina
Faculdade de Farmácia da UFMG

Instituto René Rachou
FIOCRUZ MINAS

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

CENTRO DE PESQUISAS RENÉ RACHOU

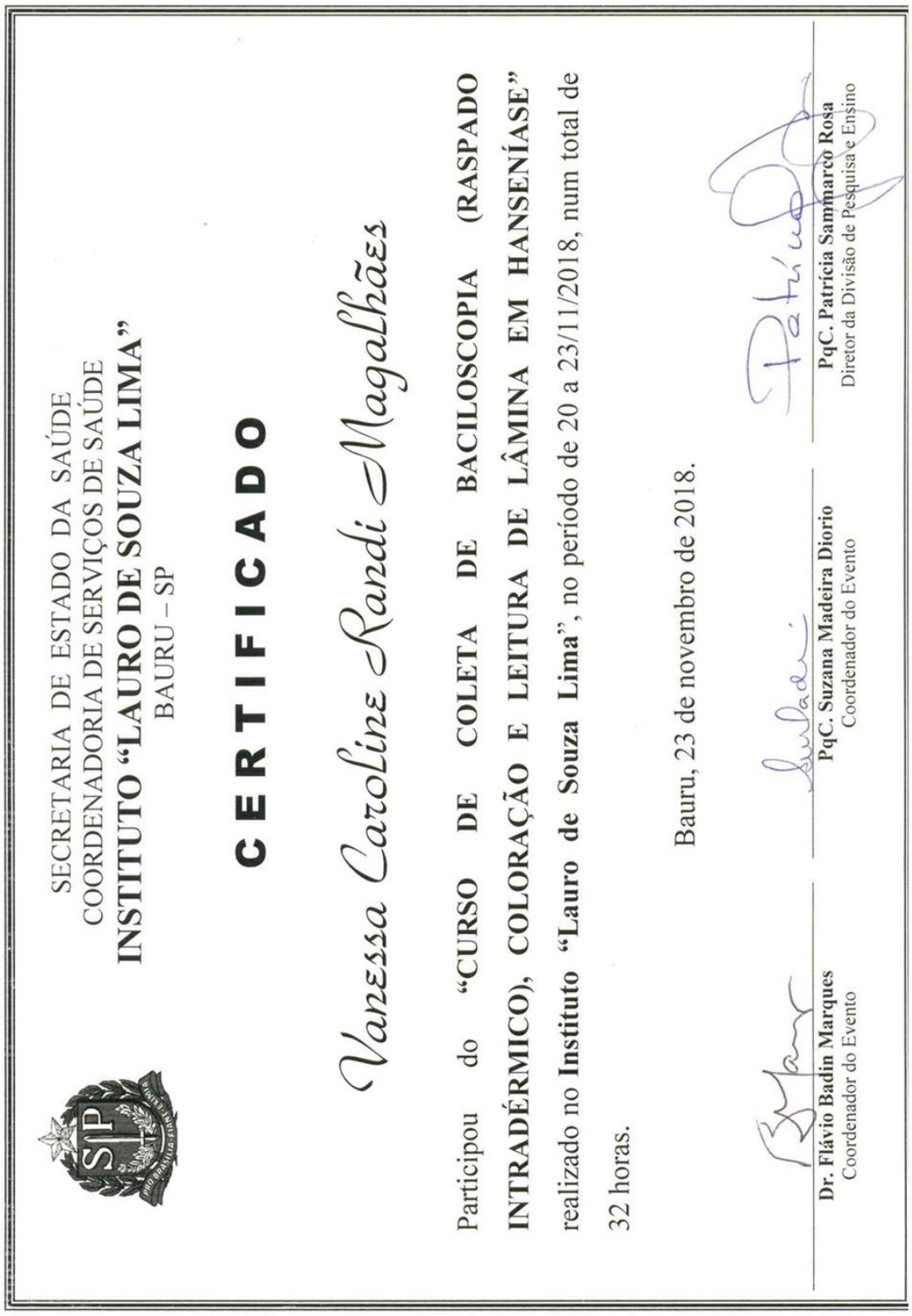
CERTIFICADO

Certificamos que Vanessa Caroline Randi Magalhães, participou do treinamento em Diagnóstico Parasitológico da Leishmaniose Tegumentar Americana, no Centro de Referência em Leishmanioses do Instituto René Rachou – Fiocruz/MG, nos dias 09, 10 e 12 de abril de 2018, com carga horária de 24 horas.

Belo Horizonte, 12 de abril de 2018

Dra. Gláucia Fernandes Cota
Coordenadora do Centro de Referência em Leishmanioses
Instituto René Rachou
Fiocruz/Minas

D. CAPACITAÇÃO EM HANSENÍASE, INSTITUTO LAURO SOUZA PINTO 2018.



SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE SERVIÇOS DE SAÚDE
INSTITUTO "LAURO DE SOUZA LIMA"
BAURU – SP

CERTIFICADO

Vanessa Caroline Randi Magalhães

Participou do **"CURSO DE COLETA DE BACILOSCOPIA (RASPADO INTRADÉRMICO), COLORAÇÃO E LEITURA DE LÂMINA EM HANSENÍASE"** realizado no **Instituto "Lauro de Souza Lima"**, no período de 20 a 23/11/2018, num total de 32 horas.

Bauru, 23 de novembro de 2018.

Dr. Flávio Badin Marques
Coordenador do Evento

PqC. Suzana Madeira Diorio
Coordenador do Evento

PqC. Patrícia Sammarco Rosa
Diretor da Divisão de Pesquisa e Ensino

FUNED

Participar do Fortalecimento do Sistema Único de Saúde, protegendo e promovendo a saúde.

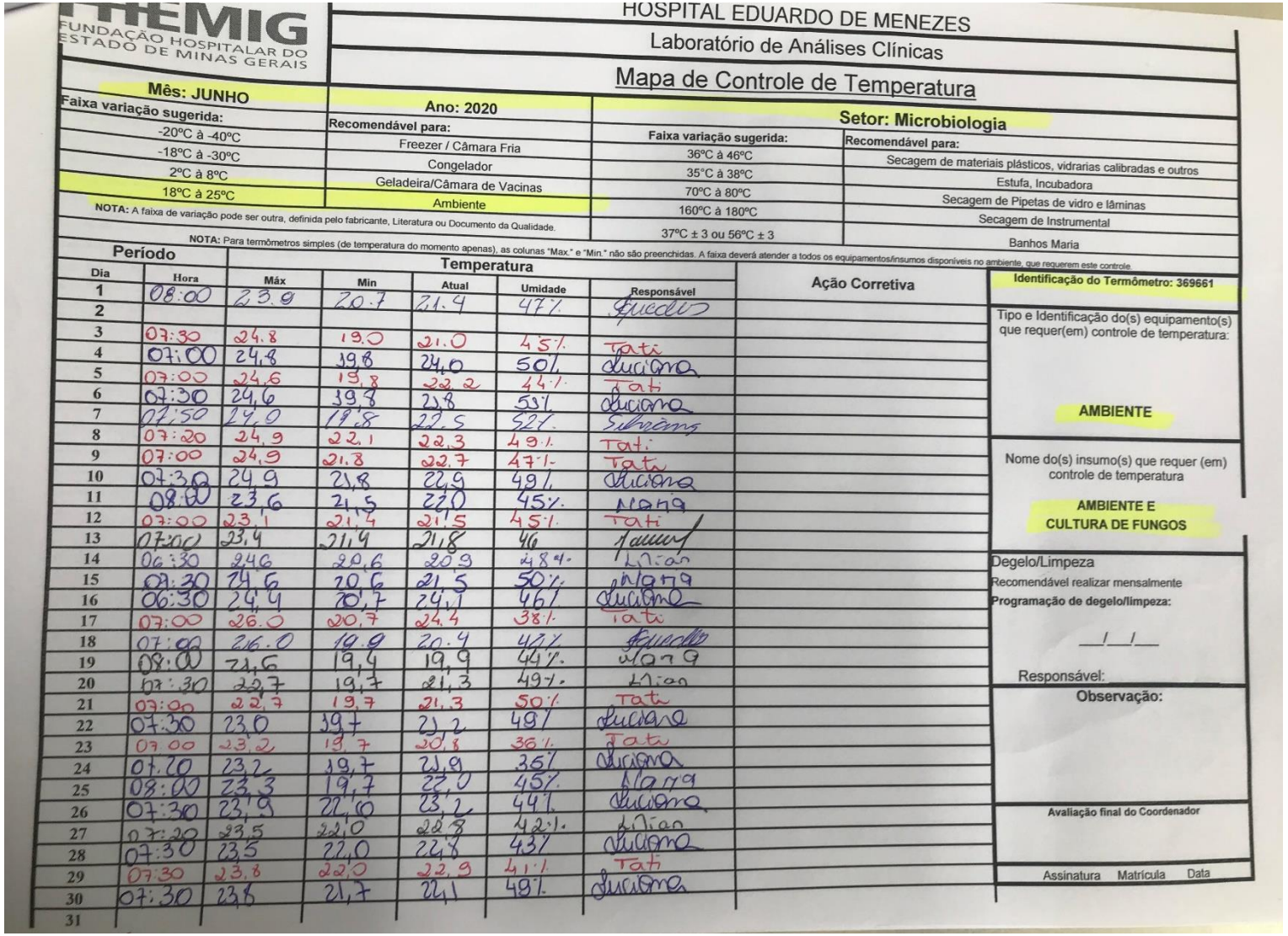
CERTIFICADO

Certifico que **Vanessa Caroline Randi Magalhães** participou da capacitação para realização do diagnóstico parasitológico direto da leishmaniose tegumentar americana, realizado na Fundação Ezequiel Dias, no período de 21 a 24 de maio de 2019, com carga horária de 32h.

Job Alves de Souza Filho
Referência Técnica em diagnóstico molecular
e parasitológico de leishmaniose tegumentar e visceral
Serviço de Doenças Parasitárias
Divisão de Epidemiologia e Controle de Doenças
Instituto Octávio Magalhães - LACEN/MG
Fundação Ezequiel Dias - FUNED

E. CAPACITAÇÃO EM LEISHMANIOSE TEGUMENTAR, FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS 2019.

ANEXO 09: PLANILHA DE REGISTRO DE TEMPERATURA DO LOCAL DE INCUBAÇÃO DAS CULTURAS DE FUNGOS.



HEMIG
FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS

HOSPITAL EDUARDO DE MENEZES
Laboratório de Análises Clínicas
Mapa de Controle de Temperatura

Mês: JUNHO | **Ano: 2020** | **Setor: Microbiologia**

Faixa variação sugerida:	Recomendável para:
-20ºC à -40ºC	Freezer / Câmara Fria
-18ºC à -30ºC	Congelador
2ºC à 8ºC	Geladeira/Câmara de Vacinas
18ºC à 25ºC	Ambiente

Faixa variação sugerida:	Recomendável para:
36ºC à 46ºC	Secagem de materiais plásticos, vidrarias calibradas e outros
35°C à 38ºC	Estufa, Incubadora
70ºC à 80ºC	Secagem de Pipetas de vidro e lâminas
160ºC à 180ºC	Secagem de Instrumental
37ºC ± 3 ou 56ºC ± 3	Banhos Maria

NOTA: A faixa de variação pode ser outra, definida pelo fabricante, Literatura ou Documento da Qualidade.

NOTA: Para termômetros simples (de temperatura do momento apenas), as colunas "Max." e "Min." não são preenchidas. A faixa deverá atender a todos os equipamentos/insumos disponíveis no ambiente, que requerem este controle.

Período		Temperatura					Ação Corretiva
Dia	Hora	Máx	Min	Atual	Umidade	Responsável	
1	08:00	23.9	20.7	21.4	47%	Eduardo	
2							
3	07:30	24.8	19.0	21.0	45%	Tati	
4	07:00	24,8	19,8	24,0	50%	Luciana	
5	07:00	24,6	19,8	22,2	44%	Tati	
6	07:30	24,6	19,8	21,8	53%	Luciana	
7	07:50	24,0	19,8	22,5	52%	Silvana	
8	07:20	24,9	22,1	22,3	49%	Tati	
9	07:00	24,9	21,8	22,7	47%	Tati	
10	07:30	24,9	21,8	22,9	49%	Luciana	
11	08:00	23,6	21,5	22,0	45%	Maria	
12	07:00	23,1	21,4	21,5	45%	Tati	
13	07:00	23,4	21,4	21,8	46	Eduardo	
14	06:30	24,6	20,6	20,9	48%	Lilian	
15	07:30	24,6	20,6	21,5	50%	Maria	
16	06:30	24,4	20,7	24,1	46%	Luciana	
17	07:00	26.0	20,7	24,4	38%	Tati	
18	07:00	26.0	19,9	20,4	47%	Eduardo	
19	08:00	21,6	19,4	19,9	44%	Maria	
20	07:30	22,7	19,7	21,3	49%	Lilian	
21	07:00	22,7	19,7	21,3	50%	Tati	
22	07:30	23,0	19,7	21,2	49%	Luciana	
23	07:00	23,2	19,7	20,8	36%	Tati	
24	07:20	23,2	19,7	21,9	35%	Luciana	
25	08:00	23,3	19,7	22,0	45%	Maria	
26	07:30	23,9	22,10	23,2	44%	Luciana	
27	07:20	23,5	22,0	22,8	42%	Lilian	
28	07:30	23,5	22,0	22,8	43%	Luciana	
29	07:30	23,8	22,0	22,9	41%	Tati	
30	07:30	23,8	21,7	22,1	48%	Luciana	
31							

Identificação do Termômetro: 369661

Tipo e Identificação do(s) equipamento(s) que requer(em) controle de temperatura:

AMBIENTE

Nome do(s) insumo(s) que requer (em) controle de temperatura

AMBIENTE E CULTURA DE FUNGOS

Degelo/Limpeza
Recomendável realizar mensalmente
Programação de degelo/limpeza:

__/__/__

Responsável:_____

Observação:

Avaliação final do Coordenador

Assinatura Matrícula Data

ANEXO 10: CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO MICOLOGIA.

A. RELATÓRIO ANUAL DO PNCQ 2015 A 2016

Programa Nacional de Controle de Qualidade

Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC)

Provedor de ensaios de Proficiência para Laboratórios Clínicos, Bancos de Sangue, Organizações de Diagnóstico in vitro e Alimentos

PNCQ

Habilitação ANVISA REBLAS

BPF

AVALIAÇÃO ANUAL
OUT/2015 - SET/2016

Laboratório Participante: 02464

Micologia

Constituinte	AVALIAÇÕES MENSAIS												TOTAL (%)		
	2015			2016											
	OUT	NOV	DEZ	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	B	A	I
Aspergillus sp.	-	-	-	-	-	-	B	-	-	-	-	-	100,00	0,00	0,00
Aspergilose	-	-	-	-	-	-	B	-	-	-	-	-	100,00	0,00	0,00
Candida sp.	-	-	-	B	-	-	-	-	-	-	-	-	100,00	0,00	0,00
Candidiase Sistêmica	-	-	-	B	-	-	-	-	-	-	-	-	100,00	0,00	0,00
Fusarium sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	-	-	100,00	0,00	0,00
Hialohifomicose	I	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	0,00	50,00	50,00
NEGATIVA	B	-	-	B	-	-	B	-	-	B	-	-	100,00	0,00	0,00
Rhodotorula sp.	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100,00	0,00	0,00
Total (%) B	66,67	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	66,67	0,00	0,00	83,33		
Total (%) A	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	33,33	0,00	0,00		8,33	
Total (%) I	33,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			8,33

B. RELATÓRIO ANUAL DO PNCQ 2016 A 2017.

Programa Nacional de Controle de Qualidade

Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC)

Provedor de ensaios de Proficiência para Laboratórios Clínicos, Bancos de Sangue, Organizações de Diagnóstico in vitro e Alimentos

PNCQ

Habilitação ANVISA REBLAS REBLAS 060 Provedor de Ensaio de Proficiência

BPF Certificado ANVISA Boas Práticas de Fabricação

AVALIAÇÃO ANUAL
OUT/2016 - SET/2017

Laboratório Participante: 02464

Micologia

Constituinte	AVALIAÇÕES MENSAIS												TOTAL (%)		
	2016			2017											
	OUT	NOV	DEZ	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	B	A	I
Aspergillus sp.	-	-	-	I	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	100,00
Aspergilose	-	-	-	I	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	100,00
Criptococose	-	-	-	-	-	-	B	-	-	-	-	-	100,00	0,00	0,00
Cryptococcus neoformans	-	-	-	-	-	-	B	-	-	-	-	-	100,00	0,00	0,00
Curvularia sp.	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	100,00	0,00
Feohifomicose	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100,00	0,00	0,00
Fusarium sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	-	-	100,00	0,00	0,00
Hialohifomicose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	-	-	100,00	0,00	0,00
NEGATIVA	B	-	-	B	-	-	-	-	-	B	-	-	100,00	0,00	0,00
POSITIVA	-	-	-	-	-	-	B	-	-	-	-	-	100,00	0,00	0,00
Total (%) B	66,67	0,00	0,00	33,33	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	75,00		
Total (%) A	33,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		8,33	
Total (%) I	0,00	0,00	0,00	66,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			16,67

C. RELATÓRIO ANUAL PNCQ 2018 A 2019

Programa Nacional de Controle de Qualidade

Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC)

Provedor de ensaios de Proficiência para Laboratórios Clínicos, Bancos de Sangue, Organizações de Diagnóstico in vitro e Alimentos

PNCQ

Habilitação ANVISA REBLAS REBLAS 069 Provedor de Ensaio de Proficiência

BPF Certificado ANVISA Boas Práticas de Fabricação

AVALIAÇÃO ANUAL

OUT/2018 - SET/2019

Laboratório Participante: 02464

Micologia

Constituinte	AVALIAÇÕES MENSAIS												TOTAL (%)		
	2018			2019											
	OUT	NOV	DEZ	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	B	A	I
Microsporum gypseum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	-	-	100,00	0,00	0,00
NEGATIVA	B	-	-	B	-	-	-	-	-	B	-	-	100,00	0,00	0,00
Rhodotorula sp.	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100,00	0,00	0,00
Trichophyton sp.	-	-	-	B	-	-	-	-	-	-	-	-	100,00	0,00	0,00
Total (%) B	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	100,00		
Total (%) A	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	
Total (%) I	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			0,00

D. RELATÓRIO CENTRO DE PESQUISA RENÉ RACHOU, 2019.

Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

CPqRR/FIOCRUZ

Rede de Laboratórios de Referência em Leishmanioses
Laboratório de Referência Nacional para a Leishmaniose Tegumentar

FICHA DE AVALIAÇÃO TÉCNICA - CONTROLE DE QUALIDADE DA PESQUISA DIRETA

N.º da lâmina enviada	RESULTADO SOLICITANTE	RESULTADO FIOCRUZ	AVALIAÇÃO FIOCRUZ			ÍNDICE DE CONCORDÂNCIA
			ESFREGAÇO	COLORAÇÃO	Presença de material	RESULTADO
Lafaiete Moraes	Inconclusivo	Inconclusivo	IRREGULAR	REGULAR	ME	100%
José Teixeira	Positivo	Positivo	REGULAR	REGULAR	AD	

Data do recebimento do material: 27/01/2020
Data da liberação do resultado: 04/03/2020

Hora do recebimento do material: 15:00;
Hora da liberação do material: 11:45

Responsável pela análise das lâminas: Lara Saraiva

Legenda:

RESULTADOS:
Positivo: presença de formas amastigotas – com visualização de núcleo, cinetoplasto e contorno da membrana;
Negativo: presença significativa de células para análise e ausência de formas amastigotas:
Inconclusivo: Lâmina com poucas células para análise;
AVALIAÇÃO DO ESFREGAÇO:
Regular: Esfregaço rico em linfa;
Irregular: Esfregaço com presença de muitas células, hemácias, bactérias e fungos.

AVALIAÇÃO DA COLORAÇÃO:
Regular: As células apresentam citoplasma azul-pálido e núcleo com coloração violeta. As formas amastigotas, se presentes, apresentam citoplasma azul-pálido e núcleo e cinetoplasto com coloração violeta.
Irregular: Azul intenso (corante forte), avermelhada (corante fraco ou pouco tempo de coloração e precipitados de corante). Ou coloração, no geral, muito pálida, com difícil visualização das células.
PRESENÇA DE MATERIAL:
AD: quantidade e qualidade de células adequadas à análise;
ME: material escasso – material com poucas células para análise;
PEF: presença de estruturas fúngicas;
PB: presença de contaminação bacteriana;
Índice de concordância: nº de lâminas positivas ou negativas observadas pelo laboratório de referência da FIOCRUZ / nº de lâminas positivas ou negativas observadas pelo solicitante X 100. Calculado pelo laboratório da FIOCRUZ.

CRL-94 Anexo B Rev 00

ANEXO 11: CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO (CQI) MICOLOGIA.

A. CQI COLORAÇÃO ZHIEL NEELSEM.

FHEMIG
FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS

Hospital Eduardo de Menezes
Laboratório de Análises Clínicas
Setor de Microbiologia

CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO DE CORANTES ZIHEL A FRIO

PNCQ BAAR
LOTE: 0497 2016
MÊS: FEVEREIRO ANO: 2020

CORANTE DE ZIHEL	LOTE	VALIDADE	FABRICANTE	DATA DO TESTE	RESULTADO	RESULTADO ESPERADO	APROVAÇÃO	AÇÃO CORRETIVA
Fucsina	90307055	06/02/2022	Laborclin	15/02/20	positivo	BAAR-POSITIVO	Sim	—
Solução Descorante	19091181	16/09/2022	Reinylab				Sim	—
Azul de Metileno	80529051	08/05/2021	Laborclin				Sim	—

Provável causa de reprovação: —

Queiroz 15/02/20

B. RASTREABILIDADE DO CORANTE ZHIEL NEELSEM.

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	HOSPITAL EDUARDO DE MENEZES LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS SETOR DE MICOLOGIA

RASTREABILIDADE DO CORANTE ZIEHL

1 TRIMESTRE — 2020

	DATA	FABRICANTE	LOTE	VALIDADE
SOLUÇÃO 1 FUCSINA FENICADA	14/01/2020	Laborclin	90307055	06/02/22
	13/02/2020	Laborclin	90307055	06/02/20
SOLUÇÃO 2 DESCORANTE	14/01/2020	Laborclin	90307055	06/02/22
	13/02/2020	Laborclin	90307055	06/02/22
SOLUÇÃO 3 AZUL DE METILENO	14/01/2020	Laborclin	90307055	06/02/22
	13/02/2020	Laborclin	90307055	06/02/22

C. RASTREABILIDADE DO CORANTE PANÓTICO.

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	HOSPITAL EDUARDO DE MENEZES LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS SETOR DE MICOLOGIA

RASTREABILIDADE DO CORANTE PANÓTICO

1 TRIMESTRE — 2020

	DATA	FABRICANTE	LOTE	VALIDADE
CORANTE 1	14/01/2020	Laborclin	80813011	10/07/21
	13/02/2020	New Prov	18888	14/07/21
CORANTE 2	14/01/2020	Laborclin	80813011	10/07/21
	13/02/20	New Prov	18889	14/07/21
CORANTE 3	14/01/2020	Laborclin	808 13011	10/07/21
	13/01/2020	New Prov	18890	14/07/21

D. RASTREABILIDADE SOLUÇÃO DE KOH A 30%.

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS	HOSPITAL EDUARDO DE MENEZES LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS SETOR DE MICOLOGIA

RASTREABILIDADE DO KOH 20%

1 TRIMESTRE | 2020

	DATA	FABRICANTE	LOTE	VALIDADE
SOLUÇÃO KOH 20%	14/03/2020	BS PHARMA	545529	17/06/2020
SOLUÇÃO KOH 20%				
SOLUÇÃO KOH 20%				

ANEXO 12: TREINAMENTO DE MICOLOGIA MÉDICA

A. TREINAMENTO MICOLOGIA MÉDICA DIA 26/02/2019.

FHEMIG
FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS

LISTA DE PRESENÇA

Nome do evento: Treinamento Micologia			Unidade: HEM
Local de realização: Auditório HEM		Nome e Setor do Responsável pela Ação:	Metodologia de Avaliação:
Turma:	Data: 26/02/2019	Horário : 14:00 às 16:00	Carga Horária:

Nome/Unidade ou Instituição/CPF do (s) Palestrante (s):
Vanessa Caroline Randi Magalhães HEM

Temas abordados: Micologia Médica e Técnicas laboratoriais

Público Alvo: Funcionários do laboratório

Evento: (X)Ação Educativa( ) Reunião ( ) Treinamento ( ) Curso ( ) Palestra ( ) Visita técnica ( ) Simpósio ( ) Seminário ( ) Estudo de caso ( ) Aula ( ) Outro_____

Modalidade: (X) Presencial ( ) A distância

*O participante que não for servidor da FHEMIG deverá colocar o CPF. **O participante que não for servidor da FHEMIG deverá colocar o orgão de origem.

nº	NOME (letra de fôrma)	MASP*	UNIDADE**	SETOR	FUNÇÃO	ASSINATURA	E-MAIL
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							

É OBRIGATÓRIO O PREENCHIMENTO DE TODOS OS CAMPOS COM LETRA LEGÍVEL, PRINCIPALMENTE O MASP E TODO O CABEÇALHO.

Assinatura palestrante (s):

Assinatura coordenador (es) do evento:

B. TREINAMENTO MICOLOGIA MÉDICA DIA 27/02/2019.

FHEMIG FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS

LISTA DE PRESENÇA

Nome do evento: Treinamento Micologia			Unidade: HEM
Local de realização: Auditório HEM		Nome e Setor do Responsável pela Ação: Laboratório - Vanessa Caroline Randi Magalhães	Metodologia de Avaliação:
Turma:	Data: 27/02/2019	Horário : 14:00 às 16:00	Carga Horária: 2h

Nome/Unidade ou Instituição/CPF do (s) Palestrante (s):
Vanessa Caroline Randi Magalhães

Temas abordados: Micologia Médica e Técnicas laboratoriais

Público Alvo: Funcionários do laboratório

Evento: (X)Ação Educativa( ) Reunião ( ) Treinamento ( ) Curso ( ) Palestra ( ) Visita técnica ( ) Simpósio ( ) Seminário ( ) Estudo de caso ( ) Aula ( ) Outro_____

Modalidade: (X) Presencial ( ) A distância

*O participante que não for servidor da FHEMIG deverá colocar o CPF. **O participante que não for servidor da FHEMIG deverá colocar o órgão de origem.

nº	NOME (letra de fôrma)	MASP*	UNIDADE**	SETOR	FUNÇÃO	ASSINATURA	E-MAIL
1	SANDRA [illegible] T. SOUZA	1041[illegible]35	HEM	[illegible]	TEC. PAT. CLINICA		SANDRA.SOUZA@HOTMAIL.COM
2	Liliane Linhares de Oliveira		HEM	laboratório	Bioquímica		lilithgoddess@hotmail.com
3	Marisa Soares de Abreu	1469[illegible]	HEM	laboratório	Téc. Patologia		marisa.soares@hotmail.com
4	Tamara de Oliveira Batista	1343867[illegible]	HEM	laboratório	Bioquímica		tamarabatista.dir@hotmail.com
5	Luzia N. Oliveira		HEM	Micologia	Téc Patologia		luzianoliveira1954@gmail
6	Ricardo Marques Paiva	1205[illegible]518	HEM	Laboratório	Téc. Laboratório		ricardo.marpai@hotmail.com
7	Fabiana Aparecida [illegible]	1346[illegible]149	Hem	laboratório	Téc Enfermag		Fabianaaparecida.biomedica@gmail.com
8	TATIANE MARIA DA SILVA	12395372	HEM	LABORATÓRIO	TÉC. MED. CLÍN		TATIANE.MSD@GMAIL.COM
9	Mirian Batista [illegible]	[illegible]	HEM	[illegible]	Téc. Pat. Clínica		[illegible]
10	Silviane Diniz [illegible]	1[illegible]69	HEM	LAB.	Téc Pat Clínica		silvianedinizh@hotmail.com
11	Tatiana [illegible]	1768[illegible]	HEM	Lab	Bioquímica		atatiana@yahoo.com
12	Wanda Barbosa da Cavalho Santos	136[illegible]410	HEM	laboratório	recepção		Wandabcs@gmail.com
13							
14							
15							
16							

É OBRIGATÓRIO O PREENCHIMENTO DE TODOS OS CAMPOS COM LETRA LEGÍVEL, PRINCIPALMENTE O MASP E TODO O CABEÇALHO.

Assinatura palestrante (s):

Assinatura coordenador (es) do evento:

ANEXO 13: TREINAMENTO LEISHMANIOSE TEGUMENTAR E FLUXO DE EXAMES.

FHEMIG
FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS

LISTA DE PRESENÇA

Nome do evento: Reunião clínica Infectologia			Unidade: HEM
Local de realização: Auditório/Videoconferência HEM		Nome e Setor do Responsável pela Ação:	Metodologia de Avaliação:
Turma:	Data: 23/07/19	Horário: 10:40 - 12:12	Carga Horária:

Nome/Unidade ou Instituição/CPF do (s) Palestrante (s):
Vanessa Cardine Randi Magalhães e Job Alves de Souza Filho (FUNED)

Temas abordados: Rotinas para Diagnóstico por PCR das leishmanias visceral e tegumentar.

Público Alvo:

Evento: ( ) Reunião ( ) Treinamento ( ) Curso ( ) Palestra ( ) Visita técnica ( ) Simpósio ( ) Seminário ( ) Estudo de caso ( ) Aula ( ) Outro_____

Modalidade: ( ) Presencial ( ) A distância

*O participante que não for servidor da FHEMIG deverá colocar o CPF. **O participante que não for servidor da FHEMIG deverá colocar o órgão de origem.

nº	NOME (letra de fôrma)	MASP*	UNIDADE**	SETOR	FUNÇÃO	ASSINATURA	E-MAIL
1	Jacqueline F. Alves		HEM	GOV	Medico		
2	Ana Cláudia G. Carvalho		HEM		R2 CLM		
3	Vivianne Magalhães		HEM		R3 CLM	Vivianne Magalhães	
4	Leonardo Saraiva Belmino		HEM	GOV	medico		
5	Flávio Augusto		HEM	Enf	R2 CLM		
6	Ana Raquel Heller Leite		HEM	Enferm.	R3 infecto		
7	SILVIA HELENA DE CARVALHO		HEM	ENF.	MEDICA		
8	Samya Ladeira Vieira			Enf.	R4 Infecto		
9	Mariana Ferreira Soares Salomão		HEM	Enf.	R2 Infecto		
10	Rosa Lúcia Lima		HEM	Enf.	R3 Infecto		
11	Raiane Paiva Reis		HEM	ENF.	Médica		
12	Tatiani D. Fauquetti		HEM	GER. ASSIST	médica		
13	Vanessa L. R. Magalhães	128.171-4	HEM	LABORATÓRIO	Bioquímica	Magalhães	
14							
15							
16							

É OBRIGATÓRIO O PREENCHIMENTO DE TODOS OS CAMPOS COM LETRA LEGÍVEL, PRINCIPALMENTE O MASP E TODO O CABEÇALHO.

Assinatura palestrante (s): Magalhães