



Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde

**Edição Comemorativa para o IX Congresso Brasileiro de
Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar
Salvador, 30 de agosto a 3 de setembro de 2004**

- Versão Preliminar -

Editora Agência Nacional de Vigilância Sanitária

SEPN 515, Edifício Omega. Bloco B, Brasília (DF), CEP 70770-502

Internet: www.anvisa.gov.br

Gerência-Geral de Tecnologia em Serviços e Saúde

Gerência de Investigação e Prevenção das Infecções e dos Eventos Adversos

É permitida a reprodução total desta obra, desde que citada a fonte.

1. ed. 2004. Tiragem: 200 exemplares em CD

Edição nova com modificações no conteúdo e no título, tendo como base o Manual de Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica publicado em 2000.

1. Infecção Hospitalar – Controle. 2. Infecção em Serviços de Saúde. 3. Microbiologia Clínica. 4. Vigilância Sanitária em Serviços de Saúde. 5. Resistência microbiana. I. Brasil. ANVISA Ministério da Saúde.

Coordenação do Projeto

Adelia Aparecida Marçal dos Santos – Gerência de Investigação e Prevenção das Infecções e dos Eventos / ANVISA / MS

Autor

Carlos Emílio Levy - Laboratório de Microbiologia - Centro Infantil Boldrini / Campinas SP

Colaboradores

Angela von Nowakowski - Serviço de Microbiologia Clínica do Hospital das Clínicas - UNICAMP / Campinas SP

Caio Marcio Figueiredo Mendes - Universidade de São Paulo, Laboratório Fleury / São Paulo SP

Carlos Emílio Levy - Laboratório de Microbiologia - Centro Infantil Boldrini / Campinas SP

Carmen Oplustil - Laboratorio Fleury / São Paulo SP

Cássia Maria Zoccoli - Farmacêutica Bioquímica

Cláudia Maria Leite Maffei - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP / Ribeirão Preto SP

Elza Masae Mamizuka - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP / São Paulo SP

Emerson Danguy Cavassin - Laboratório de Microbiologia, Hospital das Clínicas da UE / Londrina PR

Flávia Rossi - Médica Microbiologista Clínica

Igor Mimica - Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa / São Paulo SP

Helena Petridis – Consultora técnica da ANVISA

Lycia Mara Jenne Mimica - Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa / São Paulo SP

Marcia de Souza Carvalho Melhem - Instituto Adolfo Lutz / São Paulo SP

Maria Carmen Gonçalves Lopes - Laboratório de Microbiologia, Centro Infantil Boldrini / Campinas SP

Marines Dalla Valle Martino - Hospital Israelita Albert Einstein / São Paulo SP

Nilton Lincopan – Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP

Rosângela Aparecida Mendes Silva - Laboratório de Microbiologia, Centro Infantil Boldrini / Campinas SP

Revisores

Claude André Solari - Sociedade Brasileira de Microbiologia / São Paulo SP

Helena Petridis – Consultora técnica ANVISA

José Carlos Serufo - Sociedade Brasileira de Medicina Tropical / Faculdade de Medicina da UFMG

Lauro Santos Filho - Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPB / João Pessoa PB

Maria Rita Elmor – Laboratório de Microbiologia do Hospital Sírio Libanês / São Paulo SP

Pedro Bertolini - Professor aposentado da Faculdade de Odontologia de Piracicaba / USP

Sílvia Figueiredo Costa – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

CONTEÚDO GERAL

Módulo I

Principais Síndromes Infecciosas

1. Infecções do Trato Urinário
2. Infecções de Ossos e Articulações
3. Infecções de Pele e Tecido Subcutâneo
4. Infecções Intestinais
5. Infecções Abdominais
6. Infecções do Sistema Nervoso Central
7. Infecções Sistêmicas
8. Infecções Genitais
9. Infecções do Trato Respiratório Superior
10. Infecções do Trato Respiratório Inferior
11. Referências Bibliográficas

Módulo II

Segurança e Controle de Qualidade no Laboratório de Microbiologia Clínica

1. Regulamento técnico para laboratórios clínicos
2. Requisitos básicos para laboratório de microbiologia
3. Classificação dos laboratórios segundo o nível de biossegurança
4. Laboratórios NB-1, NB-2 e NB-3
5. Precauções quanto à contaminação
6. Controle de qualidade no laboratório
7. Referências Bibliográficas

Módulo III

Procedimentos Laboratoriais: da Requisição do Exame à Análise Microbiológica

1. Requisição de exames microbiológicos
2. Coleta, transporte e conservação de amostra
3. Microscopia e coloração
4. Semeadura em meios de cultura
5. Identificação
6. Manutenção e Estoque de Cultura
7. Referências Bibliográficas

Módulo IV

Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos

1. Introdução
2. Meios de cultura para transporte e conservação
3. Meios para crescimento e isolamento
4. Meios comerciais para provas de identificação
5. Fórmulas e produtos para provas de identificação
6. Discos para identificação
7. Meios para teste de sensibilidade aos antimicrobianos
8. Referências Bibliográficas

Módulo V

Detecção e identificação das bactérias de importância médica

1. Estafilococos, Streptococos, Enterococos e outros Gram positivos
2. Neisserias
3. Enterobactérias
4. bastonetes não fermentadores
5. Bacilos curvos ou espiralados
6. Bacilos Gram positivos
7. Fastidiosos
8. Anaeróbios
9. Interpretação de resultados e laudos
10. Referências Bibliográficas

Módulo VI

Detecção e identificação das micobactérias de importância médica

1. Introdução
2. Coleta de amostras
3. Processamento de amostras
4. Cultura para Isolamento de micobactérias
5. Identificação das diferentes espécies de micobactérias
6. Anexos
7. Referências Bibliográficas

Módulo VII

Detecção e identificação dos fungos de importância médica

1. Introdução
2. Coleta e transporte de amostras
3. Processamento de amostras
4. Identificação de fungos
5. Descrição das principais micoses
6. Referências Bibliográficas

INTRODUÇÃO

LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA CLÍNICA

O objetivo do laboratório de microbiologia não é apenas apontar o responsável por um determinado estado infeccioso, mas sim, indicar, através do monitoramento de populações microbianas, qual o perfil dos microrganismos que estão interagindo com o homem. Com essas informações, a equipe de saúde é capaz de definir quais microrganismos podem ser responsáveis pelo quadro clínico do paciente e assim, propor um tratamento mais adequado. No entanto, para alcançar esses objetivos, os laboratórios de microbiologia devem possuir estrutura capaz de estabelecer informações sobre a melhor amostra biológica, reconhecer a flora normal, reconhecer os contaminantes, identificar microrganismos cujo tratamento beneficia o paciente, identificar microrganismos com propósitos epidemiológicos, obter resultados rápidos em casos de emergência, racionalizar no uso de antimicrobianos, realizar o transporte rápido das amostras e o relato dos resultados e manter uma educação médica contínua em relação aos aspectos da infecção hospitalar.

A primeira edição do Manual de Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Hospitalar teve como proposta padronizar as técnicas microbiológicas consideradas fundamentais na rotina e que pudessem dar respaldo às atividades das Comissões de Controle de Infecção Hospitalar. Se, por um lado, sua virtude foi a simplicidade e objetividade no desenvolvimento dos temas, as suas limitações e a rápida evolução do conhecimento nesta área logo reclamaram sua atualização.

Estamos, agora, diante da oportunidade de resgatar algumas falhas daquela primeira edição, procurando ampliar e aprofundar temas considerados essenciais, contando com um seletivo e conceituado corpo editorial e de colaboradores. Nossa expectativa é de que os laboratórios de microbiologia, a partir das bases oferecidas por este Manual, possam assimilar e alcançar novos níveis de complexidade laboratorial, atendendo às exigências e características próprias de cada unidade hospitalar.

Não tivemos a pretensão de alcançar o conteúdo e a profundidade dos manuais-textos de microbiologia tradicionalmente consultados e que também nos serviram de referência, mas sim, de servir como manual de bancada de técnicas consagradas, procedimentos básicos padronizados e informações atualizadas de utilidade no meio hospitalar.

Esta edição revisada e ampliada foi programada em **10 módulos**, abrangendo os seguintes temas:

| | |
|-------------------|--|
| Módulo I | Principais síndromes infecciosas |
| Módulo II | Segurança e controle de qualidade no laboratório clínico |
| Módulo III | Procedimentos laboratoriais: da requisição do exame à análise microbiológica |
| Módulo IV | Descrição dos meios de cultura empregados nos exames microbiológicos |
| Módulo V | Deteção e identificação bactérias de importância médica |
| Módulo VI | Deteção e identificação micobactérias de importância médica |

| | |
|--------------------|--|
| Módulo VII | Detecção e identificação de fungos de importância médica |
| Módulo VIII | Detecção e identificação de vírus de importância médica (em produção) |
| Módulo IX | Principais métodos de detecção da resistência no Laboratório Clínico (em produção) |
| Módulo X | Laboratório de Microbiologia e sua interação com a Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (em produção) |

Esperamos assim atender à grande maioria de microbiologistas que, afastados dos grandes centros, não têm acesso a informações atualizadas na área de Microbiologia e que, melhor capacitados, possam estar à altura das expectativas das Comissões de Controle de Infecção Hospitalar, oferecendo um suporte técnico atualizado e mais eficiente.

INTRODUÇÃO A INFECÇÃO HOSPITALAR

Uma das maiores preocupações na área de saúde é a alta incidência de infecção hospitalar ou nosocomial, isto é, infecção adquirida em ambientes hospitalares durante a internação ou após a alta do paciente, quando este esteve hospitalizado ou passou por procedimentos médicos.

A infecção hospitalar atinge o mundo todo e representa uma das causas de morte em pacientes hospitalizados. No Brasil, segundo o Ministério da Saúde, a taxa média de infecção hospitalar é de cerca 15%, ao passo que nos EUA e na Europa é de 10%. Cabe lembrar, no entanto, que o índice de infecção hospitalar varia significativamente, pois está diretamente relacionada com o nível de atendimento e complexidade de cada hospital.

Diferentes microrganismos como bactérias, fungos, e vírus causam infecções hospitalares. O grupo de patógenos, no entanto, que se destaca é o das bactérias que constituem a flora humana e que normalmente não trazem risco a indivíduos saudáveis devido sua baixa virulência, mas que podem causar infecção em indivíduos com estado clínico comprometido – denominadas assim de bactérias oportunistas.

O segundo grupo de importância médica nas infecções hospitalares são os fungos, sendo o *Candida albicans* e o *Aspergillus* os patógenos mais frequentes. Os fungos são responsáveis por aproximadamente 8% das infecções hospitalares. Dentre as viroses, o vírus da hepatite B e C, enterovirose e viroses associadas com pneumonia hospitalar são comumente registrados. As viroses representam por volta de 5% das infecções.

Geralmente os sítios de infecção hospitalar mais frequentemente atingidos são o trato urinário, feridas cirúrgicas e trato respiratório. Os patógenos que lideram no ranking das infecções hospitalares estão descritos na tabela abaixo.

Agentes mais comuns de infecções nosocomiais

| Patógeno | Sítios comuns de isolamento do patógeno |
|-----------------------------------|--|
| Bactérias Gram negativas | |
| <i>Escherichia coli</i> | Trato urinário, feridas cirúrgicas, sangue |
| <i>Pseudomonas sp</i> | Trato urinário, trato respiratório, queimaduras |
| <i>Klebsiella sp</i> | Trato urinário, trato respiratório, feridas cirúrgicas |
| <i>Proteus sp</i> | Trato urinário, feridas cirúrgicas |
| <i>Enterobacter sp</i> | Trato urinário, trato respiratório, feridas cirúrgicas |
| <i>Serratia sp</i> | Trato urinário, trato respiratório, feridas cirúrgicas |
| Bactérias Gram positivas | |
| <i>Streptococcus sp</i> | Trato urinário, trato respiratório, feridas cirúrgicas |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Pele, feridas cirúrgicas, sangue |
| <i>Staphylococcus epidermitis</i> | Pele, feridas cirúrgicas, sangue |
| Fungi | |
| <i>Candida albicans</i> | Trato urinário, sangue |
| outros | Trato urinário, sangue, trato respiratório |

O ambiente hospitalar é inevitavelmente um grande reservatório de patógenos virulentos e oportunistas, de modo que as infecções hospitalares podem ser adquiridas não apenas por pacientes, que apresentam maior susceptibilidade, mas também, embora menos frequentemente, por visitantes e funcionários do próprio hospital.

Os patógenos implicados nas infecções hospitalares são transmitidos ao indivíduo tanto via endógena, ou seja, pela própria flora do paciente quanto pela via exógena. Esta última inclui veículos como mãos, secreção salivar, fluidos corpóreos, ar e materiais contaminados, como por exemplo, equipamentos e instrumentos utilizados em procedimentos médicos. Muitos destes procedimentos são invasivos, isto é, penetram as barreiras de proteção do corpo humano, de modo a elevar o risco de infecção (vide Tabela)

Os principais fatores que influenciam a aquisição de uma infecção são:

- status imunológico
- idade (recém-nascidos e idosos são mais vulneráveis)
- uso abusivo de antibióticos
- procedimentos médicos, em particular, os invasivos
- imunossupressão
- falhas nos procedimentos de controle de infecção

Exemplos de microrganismos da flora normal humana

Pele

Staphylococcus
Micrococcus
Propionibacterium
Corynebacterium
Streptococcus
Malassezia
Pityrosporum

Olhos

Staphylococcus
Streptococcus
Neisseria

Cavidade oral

Lactobacillus
Neisseria
Streptococcus
Fusobacterium
Actinomyces
Treponema
Bacteroides

Trato respiratório

Staphylococcus
Corynebacterium
Streptococcus
Hemophilus
Neisseria
Branhamella

Trato Digestivo

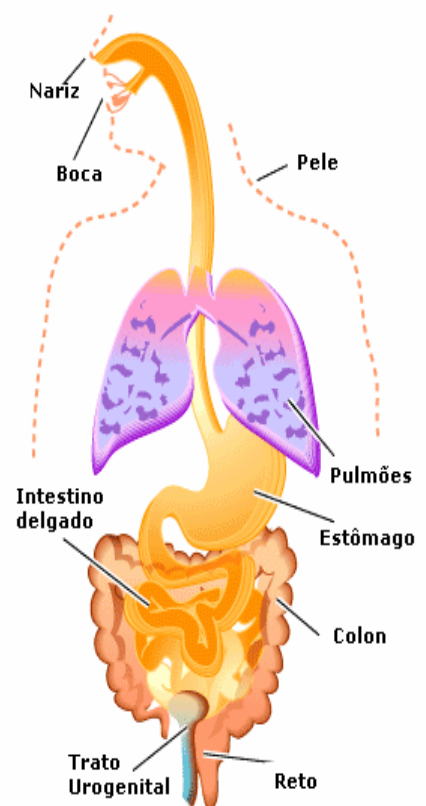
Bacteroides
Lactobacillus
Enterococcus
Escherichia coli
Proteus
Klebsiella
Enterobacter
Bifidobacterium
Citrobacter
Fusobacterium
spirochetes

Trato Urogenital

Streptococcus
Bacteroides
Mycobacterium
Neisseria
Enterobacter
Clostridium
Lactobacillus
Candida
Trichomonas

Ouvido

Staphylococcus
Corynebacterium



Procedimentos médicos comuns associados com infecções nosocomiais

| Procedimento | Doença | Patógeno |
|------------------------|--|--|
| Cateterização urinária | Cistite | Bacilos gram negativos, enterococos |
| Cirurgia | Feridas, septicemia | <i>Staphylococcus</i> , bacilo gram negativos, bacteróides |
| Terapia intravenosa | Infecção no local de injeção, septicemia | <i>Staphylococcus</i> , <i>klebsiella</i> , <i>Serratia</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Candida</i> |
| Intubação respiratória | pneumonia | <i>Pseudomonas</i> , <i>klebsiella</i> , <i>Serratia</i> |
| Díalise renal | Sepse, reação pirogênica | Vírus da hepatite B, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas</i> |