Ministério da Educação
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba

REGULAMENTO DAS ATIVIDADES PRÁTICAS DESENVOLVIDAS NAS UNIDADES EDUCATIVAS DE PRODUÇÃO, LABORATÓRIOS DE ENSINO PARA A SAÚDE E LABORATÓRIOS DE HABILIDADES EM MEDICINA VETERINÁRIA DO IFPB, CAMPUS SOUSA

Sousa-PB
2023

REGULAMENTO DAS ATIVIDADES PRÁTICAS DESENVOLVIDAS NAS UNIDADES EDUCATIVAS DE PRODUÇÃO, LABORATÓRIOS DE ENSINO PARA A SAÚDE E LABORATÓRIOS DE HABILIDADES EM MEDICINA VETERINÁRIA

Dispõe sobre o regulamento interno das atividades práticas, nas unidades educativas de produção e dos laboratórios de ensino para a saúde e de habilidades em medicina veterinária do Instituto Federal da Paraíba (IFPB), Campus Sousa, incluindo deveres, responsabilidades e procedimentos operacional padrão.

CAPÍTULO I
DOS OBJETIVOS E DEFINIÇÕES

Art. 1º. O presente regulamento visa definir regras e condutas a serem observadas durante a utilização das Unidades educativas de produção, Laboratórios de ensino para a saúde e de habilidades em medicina veterinária do IFPB, Campus Sousa, almejando a realização de procedimentos práticos assertivos que previnam ou minimizem a ocorrência de acidentes durante as atividades realizadas nestes ambientes, bem como, orientar servidores, discentes e demais usuários sobre as normas de funcionamento.

Art. 2º. As Unidades educativas de produção (UEP) possibilitam vivências práticas referentes ao manejo de produção, reprodução e manutenção de animais de produção.

Art. 3º. Os laboratórios são destinados à realização das atividades práticas que permitam aos discentes experenciarem situações que simulem a prática profissional.

Artº. 4º. São objetivos gerais do Regulamento:

I. Apresentar a docentes, discentes e técnicos as normas básicas definidas institucionalmente para o acesso e utilização dos laboratórios e unidades produtiva, com vista à realização de aulas práticas e/ou de momentos de estudos, em conformidade com padrões de biossegurança.

II. Informar aos usuários, em particular aos servidores e discentes, sobre a postura e principais procedimentos a se adotar nos ambientes, visando proteção dos mesmos.

III. Proporcionar, prioritariamente, a realização de atividades práticas/pedagógicas, para o desenvolvimento das disciplinas dos Cursos de Graduação e Pós-Graduação do IFPB, Campus Sousa, ofertadas pelo docente e/ou servidor responsável pelo ambiente;

IV - Apoiar as atividades de pesquisa, ensino e extensão devidamente cadastradas nas Pró-reitoras pertinentes, vinculadas ou não a Programas de Iniciação Científica da Pesquisa e Extensão, com a anuência do responsável pela unidade produtiva ou laboratório do IFPB, Campus Sousa;

V - Possibilitar o aprimoramento da produção científica dos Cursos da Área de Saúde, Agraria e afins do IFPB.

§ 1º Para execução dos objetivos propostos são determinados Procedimento Operacional Padrão (POP) das Unidades Educativas de Produção e dos Laboratórios de Ensino para a Saúde e de Habilidades em Medicina Veterinária, conforme este regulamento.

§2º. Está disposto na forma de Anexo a este Regulamento os Procedimentos Operacional Padrão das Unidades Educativas de Produção e dos Laboratórios de Ensino para a Saúde e de Habilidades em Medicina Veterinária do IFPB, Campus Sousa.

CAPÍTULO II
UNIDADES EDUCATIVAS DE PRODUÇÃO

Art. 5º. As unidades educativas de produção servem à comunidade acadêmica para o atendimento das demandas educacionais referentes aos cursos do IFPB, Campus Sousa, bem como permitem a extensão de serviços à sociedade externa do IFPB, garantindo assim a inserção do discente precocemente em atividades práticas, de forma integrada e interdisciplinar.

Art. 6º. As unidades existentes no IFPB, Campus Sousa, são:

I – Bovinocultura;

II – Ovinocultura;

III – Suinocultura.

CAPÍTULO III
LABORATÓRIOS DE ENSINO PARA A SAÚDE

Art. 7º. Os Laboratórios de ensino para área de saúde permitem a capacitação dos discentes nas diversas competências desenvolvidas em diferentes fases dos cursos do IFPB, Campus Sousa;

Art. 8º. São enquadrados como laboratórios de ensino para saúde:

I - Laboratório de Anatomia Animal;

II - Laboratório de Microbiologia Veterinária;

III - Laboratório de Parasitologia Veterinária;

IV - Laboratório de Imunologia e doenças infecto-contagiosas;

V - Laboratório de Anatomia Patológica, histopatologia e citologia;

VII - Laboratório de Biologia Molecular;

VI - Laboratório de Informática.

CAPÍTULO IV

LABORATÓRIOS DE HABILIDADES EM MEDICINA VETERINÁRIA

Art. 9º. Os Laboratórios de Habilidades são ambientes de aprendizagem, direcionados para o desenvolvimento de habilidades técnicas do serviço e da prática da profissional vinculados com o exercício profissional, seus princípios normativos, organizativos e direcionais.

Art. 10º. Dispõe de materiais permanentes e de consumo disponíveis para atender às atividades práticas, além de normas de funcionamento, utilização e segurança, divulgadas em locais estratégicos.

Art. 11º. São cenários de prática especializados que priorizam a ampliação do conhecimento teórico-prático do Curso, dentro do contexto sociocultural da comunidade em que estão inseridos.

Art. 12º. São classificados como laboratórios de habilidades em Medicina Veterinária:

I - Laboratório de Microbiologia Veterinária;

II - Laboratório de Parasitologia Veterinária;

III - Laboratório de Imunologia e Doenças infecto-contagiosas;

IV - Laboratório de Anatomia Patológica, Histopatologia e Citologia;

V - Laboratório de Patologia Clínica Veterinária;

VI - Clínica Médica de Pequenos Animais;

VII - Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais;

VIII - Clínica Médica de Grandes Animais;

IX - Clínica Cirúrgica de Grandes Animais;

X - Laboratório de Reprodução Animal;

XI - Laboratório de Diagnóstico por Imagem em animais de grande e pequeno porte.

CAPÍTULO V

DOS DEVERES DOCENTES, DISCENTES E TÉCNICOS, NOS LABORATÓRIOS DE ENSINO PARA ÁREA DE SAÚDE, LABORATÓRIOS DE HABILIDADES EM MEDICINA VETERINÁRIA E UNIDADES BÁSICAS DE SAUDE

Art. 13°. São deveres dos docentes:

I - Cumprir e fazer cumprir o regulamento do setor, as normas e as rotinas enquanto estiverem no mesmo realizando as práticas;

II - Respeitar a prioridade de uso do setor pelos professores nas atividades de ensino da graduação;

III - Responsabilizar-se pelos discentes, bolsistas e monitores sob sua supervisão durante as práticas;

IV - Responsabilizar-se por manter a ordem do ambiente, bem como, zelar pelos equipamentos durante o uso das dependências;

V - Orientar e acompanhar as práticas desde o início das atividades para evitar tumulto dos alunos;

VI - Registrar os procedimentos nas fichas de atendimento e/ou livros de registro;

VII - Orientar os alunos quanto à toxicidade das substâncias que serão utilizadas nas aulas práticas, as medidas de segurança e os procedimentos em caso de acidente;

VIII - Orientar os alunos quanto ao descarte correto dos materiais;

IX - Orientar os alunos quanto aos riscos de manuseio com os pacientes atendidos nas aulas práticas e nas atividades de pesquisa e extensão, encaminhando em caso de acidentes o aluno ao atendimento médico no Campus Sousa, para que sejam tomadas as devidas providências.

Art. 14°. São deveres dos discentes:

I - Cumprir e fazer cumprir o regulamento do setor, as normas e as rotinas enquanto estiverem no mesmo realizando as práticas;

II - Providenciar material de uso individual necessário para desenvolvimento de atividades de ensino, de acordo com os procedimentos operacionais padronizados (POP) dos setores;

III - Manter o material individual em bom estado e em condições de higiene, priorizando boa apresentação durante as atividades desenvolvidas nos setores;

IV - Portar-se com respeito para com os pacientes e proprietários que participam das atividades de ensino, pesquisa e extensão, bem como, para com os colegas e professores;

V - Manter ordem, a limpeza e a segurança nas dependências dos setores;

VI - Responsabilizar-se pela conservação dos equipamentos e materiais disponíveis para as práticas;

VII - Manter tom de conversa adequado nos setores;

VIII - Utilizar de maneira correta os equipamentos e materiais disponíveis;

IX - Não utilizar equipamentos sem autorização de docente ou técnico responsável;

X - Manter o ambiente organizado e limpo após o término das práticas realizadas;

XI - Não ingerir alimentos durante atividades nos setores;

XII - Respeitar colegas, professores, pacientes e proprietários durante as atividades realizadas nos laboratórios;

XIII - Não jogar materiais biológicos ou reagentes químicos nas pias e vasos sanitários que possam contaminar o meio ambiente. Fazer o descarte dos resíduos biológicos conforme instruções recebidas pelo professor das disciplinas;

XIV - Tirar fotos do local e/ ou de procedimentos sem permissão do responsável pela atividade;

XV - Publicar fotos que envolvam pacientes e procedimentos clínicos/ cirúrgicos em redes/mídias sociais.

Art. 15°. São deveres dos técnicos:

I - Cumprir e fazer cumprir o regulamento, as normas e a rotina estabelecida pelo responsável pelo setor;

II - Preparar com antecedência os materiais necessários à prática laboratorial;

III - Acompanhar presencialmente todas as atividades desenvolvidas no setor quando requisitado pelo professor responsável pela atividade;

IV - Orientar professores, alunos e visitantes sobre as normas de utilização do setor;

V - Utilizar e solicitar o uso dos EPI´s (Equipamentos de Proteção Individual) fornecidos pelo IFPB, Campus Sousa;

VI - Zelar pela limpeza, segurança e organização do setor, manutenção dos móveis, equipamentos em geral e materiais de consumo;

VII - Dar o devido destino aos resíduos gerados (quando houver) após as atividades no setor;

VIII - Comunicar ao responsável pelo laboratório sobre qualquer anormalidade constatada no setor;

IX - Não fornecer a chave do laboratório a alunos ou permitir que os mesmos permaneçam no recinto sem a autorização de docente ou membro responsável pelo setor;

X - Não permitir que servidores de outros laboratórios, que não tenham qualquer tipo de relação com o setor, permaneçam no recinto sem acompanhamento ou autorização do responsável;

XI - Manter sempre o prédio fechado enquanto não há atividades ocorrendo nos laboratórios.

CAPÍTULO VI
DAS OBRIGAÇÕES GERAIS

Art.16°. Qualquer dano que ocorra a equipamentos ou móveis deve ser comunicado imediatamente ao coordenador do Hospital Veterinário (quando ocorrer nos Laboratórios de Microbiologia Veterinária, Parasitologia Veterinária; Laboratório de Imunologia e doenças infecto-contagiosas; Laboratório de Anatomia Patológica, histopatologia e citologia,Laboratório de Biologia Molecular, - Laboratório de Patologia Clínica Veterinária; Clínica Médica de Pequenos Animais; Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais;Clínica Médica de Grandes Animais, Clínica Cirúrgica de Grandes Animais; Laboratório de Reprodução Animal; Laboratório de Diagnóstico por Imagem em animais de grande e pequeno), ao coordenador do Curso de Bacharelado em Medicina Veterinária (quando ocorrer no Laboratório de Anatomia Animal), ao coordenador do Curso de

Agroecologia (quando ocorrer no laboratório de informática), ao Coordenador de Produção, Pesquisa e Extensão (quando ocorrer nas UEPs); para que possam ser tomadas as devidas providências, realizando o levantamento sobre as perdas e danos.

Art. 17°. É proibida a retirada de qualquer tipo de material do prédio sem prévia autorização do diretor administrativo do Campus Sousa.

Art. 18°. É proibido prática de fumar e ingerir bebidas alcoólicas ou entorpecentes;

CAPÍTULO VII
DAS DISPOSIÇÕES FINAIS

Art. 19°. Uma vez tomados os cuidados necessários mencionados neste regulamento, tanto o professor coordenador do setor, quanto os professores que o utilizarão, bem como as coordenações do Curso de Medicina Veterinária, Coordenação do Hospital Veterinário e Coordenação de Agroecologia e o IFPB, Campus Sousa ficam isentos da responsabilidade em qualquer tipo de acidente que venha a ocorrer pelo mau uso dos materiais ou equipamentos manuseados pelos alunos.

Art. 20°. Os casos omissos neste regulamento serão analisados pelo Conselho Diretor do Campus Sousa.

INSTITUTO FEDERAL
Paraíba
Campus
Sousa

ANEXO

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP)

UNIDADES EDUCATIVAS DE PRODUÇÃO, LABORATÓRIOS DE ENSINO PARA A SAÚDE E LABORATÓRIOS DE HABILIDADES EM MEDICINA VETERINÁRIA CAMPUS SOUSA/UNIDADE SÃO GONÇALO

VERSÃO 1.0

2023

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP):
Manejo na sala de ordenha da UEP de Bovinocultura do IFPB-Campus Sousa/Unidade São Gonçalo.

SETOR: BOVINOCULTURA

IFPB **CAMPUS SOUSA/UNIDADE SÃO GONÇALO**	**PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO**	**Estabelecido em: 02/06/2023** **Revisado em: JUN/2025** **VERSÃO:** Nº 01

ATIVIDADE: Ordenha das vacas lactantes da UEP de Bovinocultura do IFPB-Campus Sousa/ Unidade São Gonçalo.

OBJETIVO: Orientar os funcionários da UEP de Bovinocultura, do IFPB-Campus Sousa/ Unidade São Gonçalo, sobre a ordenha das vacas em lactação com cuidados adequados, proporcionando a obtenção de maior quantidade e qualidade do produto produzido e quanto à utilização da máquina e equipamentos da ordenha de modo eficiente e seguro.

EXECUTANTE: Servidores e colaboradores habilitados, e estagiários das UEP's do IFPB-Campus Sousa/ Unidade São Gonçalo.

ABRANGÊNCIA: Este POP restringe-se ao uso de máquinas e equipamentos para realização de atividades laborais nas dependências da ordenha/sala de resfriamento de leite na UEP de Bovinocultura do IFPB-Campus Sousa/ Unidade São Gonçalo.

PROCEDIMENTO:

1. Checar se está tudo em ordem para iniciar a ordenha: quantidade suficiente de produtos par pré e pós-dipping, funcionamento do equipamento de ordenha.

2. Verificar se há pontos críticos onde o animal possa se machucar ou desviar sua atenção durante a passagem na sala de ordenha: pedaços de pau, pedras, mangueira, fezes e poços de água.

3. O ordenhador deve estar atento a certos sinais apresentados pelas vacas, como por exemplo: olhos fundos, pelos arrepiados, diminuição na ingestão de alimentos, parada da ruminação, queda na produção de leite e alterações na urina ou nas fezes (muito mole, muito seca, ou com sangue) que podem ser indicativos de problemas de saúde. Comunique imediatamente o responsável técnico.

4. Verificar a limpeza do local.

5. Na sala de ordenha deve estar presente SOMENTE o ordenhador e o auxiliar. Evite barulhos e conversas desnecessárias durante este processo.

6. Cheque se o local de ordenha está preparado para receber as vacas.

7. Realize as ordenhas sempre nos mesmos horários. A ordenha da manhã deve iniciar às 6h e a tarde às 13h30min, conforme cronograma de aulas.

8. Conduza as vacas da sala de espera para a de ordenha com calma, sem bater nos animais, nem correr e nem gritar.

9. Respeite a formação da linha de ordenha. Ordenhe na seguinte sequência: primeiro as vacas sadias, seguido das com mastite subclínica, finalizando com os animais com mastite, de acordo a lista afixada na sala de ordenha.

10. Ordenhe primeiro as vacas em boas condições de saúde e deixe para o final as vacas com problemas.

11. Acomode as vacas no local de ordenha, não grite, não bata, nem empurre as vacas para que elas se posicionem. Tenha paciência.

12. Utilize instrumentos de apoio como bandeirinhas e cotonetes para auxiliar na condução e acomodação das vacas. É proibido usar paus, instrumentos de choques ou qualquer outro objeto que possa agredir os animais.

13. Tenha mais cuidado com vacas recém-paridas e mais reativas. Não se arrisque. Tenha conhecimento para decidir qual a melhor decisão de manejo para estes animais.
14. Se julgar necessário, amarre as pernas das vacas mais agitadas. Não utilize a corda para bater ou ameaçar o animal. Assegure que a vaca esteja bem contida para iniciar as ações de ordenha.

15. Lave os tetos com água corrente somente quando estiverem sujos, não molhe o úbere.

16. Faça a vaca perceber sua presença nesse momento, conversando com ela. Sinalize a sua presença antes de tocar em seu teto.

17. Faça o teste da caneca de fundo preto para o diagnóstico de mastite clínica, cheque teto por teto, retirando 3 jatos de leite para cada teto na caneca.

18. No caso do resultado do teste ser positivo, comunique o responsável para que este inicie o protocolo de tratamento referente à mastite.

19. Se o teste der negativo, continue a ordenha. Realize o pré-dipping.

20. Utilize o copo aplicador sem retorno contendo desinfetante e faça imersão de todo o teto na solução. Tome cuidado para não aplicar somente nas pontas dos tetos.

21. Inicie a aplicação do produto nos tetos mais distantes e depois nos mais próximos. Aguarde 30 segundos antes de realizar a secagem.

22. Enquanto aguarda o tempo de ação do desinfetante, comece a fazer o teste de caneca de fundo preto e o pré-dipping em outras duas vacas, conforme os itens 11, 12, 13, 14 e 15.

23. Termine estes procedimentos e retorne a primeira vaca para realizar a secagem dos tetos.

24. Seque os tetos um a um, utilize papel toalha descartável. Em seguida, passe para a segunda, finalizando o pré-dipping dela.

25. Trabalhe de 2 em 2 vacas, até que todos os animais estejam com o pré-dipping devidamente realizado.

26. Em seguida, acople as teteiras. Não demore mais que 2 minutos para acoplar as teteiras ao úbere da vaca após a pré-dipping.

27. Para colocar a teteira, faça o bloqueio da saída de vácuo de cada teteira, antes de fixá-la. Para isso, dobre levemente a mangueira de vácuo. Assim que colocar a teteira libere-a saída e passe para outra, até acoplar todo o conjunto.

28. Ajuste bem as teteiras para evitar a entrada de ar.

29. Ao terminar de fixar todas as teteiras em um lado da ordenha, comece a preparar a nova bateria de vacas do outro da ordenha, de acordo com os itens de 6 a 18.

30. Depois de preparar todas as vacas do outro lado da sala para ordenha (teste da caneca de fundo preto e mastite) retorne ao primeiro lado.

31. Caso todas as teteiras ainda não estejam liberadas, monitore àquelas que não foram e verifique se será necessária alguma ajuda extra com estas vacas (como vacas que prendem o leite ou falhas nos extratores automáticos de teteiras).

32. Tenha cuidado com a sobre (tempo de ordenha menor que o ideal) e/ou super (tempo de ordenha maior que o ideal) ordenha. Caso diagnostique qualquer um desses casos, avise imediatamente ao responsável.

33. O tempo ideal de uma ordenha/vaca será dependente da sua produção de leite. Como auxílio: visualize o fluxo do leite que passa pela teteira, identificando se o fluxo já diminuiu o suficiente ou finalizou.

34. Após retirada completa do conjunto de teteiras, realize imediatamente a desinfecção dos tetos (pós-dipping). Comece dos tetos mais distantes para os mais próximos. Aplique a solução cuidadosamente em todo o teto e não apenas na sua ponta.

35. A partir deste momento, a vaca já está pronta para ser liberada da sala de ordenha.

36. Libere as vacas da sala de ordenha calmamente.

37. Se alguma vaca defecar ou urinar durante a ordenha, utilize um rodo ou pá e empurre (ou puxe) os dejetos para a calha de drenagem. Lave o local apenas no intervalo entre as baterias de ordenha.

38. Realize a limpeza das instalações e dos equipamentos imediatamente após a ordenha.

39. Para a lavagem e desinfecção de equipamentos de ordenha mecanizada siga sempre as instruções do POP Higienização da ordenhadeira.

40. Após cada ordenha deixe as instalações e todos os equipamentos, materiais e utensílios preparados para o início da próxima.

41. As aplicações de medicamentos e outros tratamentos não devem ser feitos na sala de ordenha. Defina um local adequado para esses tratamentos, com boas condições de segurança para os animais e para os responsáveis pelo trabalho.

42. Forneça alimento para as vacas logo após elas saírem da sala de ordenha.

CUIDADOS GERAIS:

1. Utilizar vestimenta adequada.

2. Solicitar a saída de pessoas não autorizadas nas proximidades da sala de ordenha e equipamento.

3. Os equipamentos e máquinas da UEP de Bovinocultura do IFPB, Campus Sousa/ Unidade São Gonçalo, podem ser manuseados somente por funcionários habilitados.

4. Os participantes devem estar em condições adequadas de higiene, deve-se evitar o consumo de alimentos e fumo (fumar) durante a ordenha.

AÇÕES DE NÃO CONFORMIDADE: A falta de execução desses procedimentos deve ser informada a chefia imediata e comunicada ao executante por meio de documento formal.	
ELABORADO POR: COMISSÃO DE ELABORAÇÃO DE POP DAS UNIDADES EDUCATIVAS DE PRODUÇÃO ANIMAL: PORTARIA:206/2023	**APROVADO POR:** FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP):
Manejo de bovinos de leite da UEP de Bovinocultura do IFPB-Campus Sousa/Unidade São Gonçalo.

SETOR: BOVINOCULTURA

IFPB **CAMPUS SOUSA/UNIDADE SÃO GONÇALO**	**PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO**	**Estabelecido em: 02/06/2023** **Revisado em: JUN/2025** **VERSÃO:** Nº 01

ATIVIDADE: Manejo da UEP Bovinocultura do IFPB, Campus Sousa/Unidade São Gonçalo – PB.

OBJETIVO: Orientar os funcionários da UEP de Bovinocultura do IFPB, Campus Sousa/ Unidade São Gonçalo, quanto ao manejo dos bovinos de leite, visando realizar as atividades com maior eficiência e segurança do trabalho prestado à instituição e sociedade.

EXECUTANTE: Servidores e colaboradores habilitados, e estagiários das UEP's do IFPB-Campus Sousa/ Unidade São Gonçalo.

ABRANGÊNCIA: Este POP restringe-se ao manejo dos bovinos de leite para realização de atividades laborais nas dependências da UEP de Bovinocultura do IFPB-Campus Sousa/ Unidade São Gonçalo.

PROCEDIMENTO:

1. Antes de realizar a atividade, utilizar de modo adequado os equipamentos de proteção individual (EPIs).

2. Durante o manejo não atender celular ou pessoas (exceto em caso de aulas práticas).

3. Utilizar os equipamentos em conformidade com o seu manual de operações.

4. Manter todos os procedimentos de segurança durante as atividades.

5. Em caso de qualquer anormalidade na Unidade Educativa de Produção: Bovinocultura comunique o superior para tomada de decisão.

6. Verificar os animais nos pastos pelo menos uma vez ao dia, quando estes estiverem nas pastagens.

7. Qualquer miíase (bicheira) trazer o animal para o curral de manejo para tratamento.

8. O manejo dos animais deve ser de forma calma, cautelosa, com o mínimo de estresse e o máximo de conforto possível para os animais.

9. Não permitir que pessoas estranhas toquem, brinquem, aproximem dos animais.

10. Alunos, apenas sob orientação e responsabilidade do (a) professor (a) ou técnico (a) responsável pela UEP podem entrar no setor.

11. Antes de iniciar qualquer manejo animal, verificar se todas as condições locais encontram-se preparadas para a atividade, como equipamentos em condições de uso, porteiras, cordoalhas do curral e cordas em condições de manejo, na posição correta e quantidade adequada.

12. Nos animais recém nascidos proceder (realizar) a queima do umbigo com iodo a 10% por três dias.

13. Fazer as anotações necessárias de nascimentos de acordo com as orientações do médico (a) veterinário (a) ou técnico (a) responsável.

14. Observar os animais em trabalho de parto e qualquer anormalidade comunicar ao médico (a) veterinário (a) ou técnico (a) responsável.

15. A inseminação artificial deve ser realizada no brete de contenção em animais aptos e com a devida anotação.

16. A alimentação dos animais com volumoso, nos cochos dos piquetes deve ser realizada diariamente às 08h00min e às 13h00min.

17. A alimentação das vacas em lactação com concentrado deve ser realizada diariamente às 06h00min e às 13h30min.

18. A alimentação das novilhas e bezerras de recria com concentrado deve ser realizada diariamente às 09h00min e às 15h00min.

19. O corte de cana ou capim, no período seco do ano, deve ocorrer somente após a orientação do médico (a) veterinário (a) ou técnico (a) responsável.

20. Qualquer anormalidade comunicar ao médico (a) veterinário (a) ou técnico (a) responsável.

21. A aplicação ou uso de qualquer medicação nos animais devem estar sob responsabilidade e orientação do médico (a) veterinário (a).

22. Qualquer aplicação de medicamento nos animais deverá ser realizada no brete de contenção, com calma, sem pressa e com cuidado para evitar estresse animal e possíveis acidentes.

CUIDADOS GERAIS:

1. Utilizar vestimenta adequada.

2. Solicitar a saída de pessoas não autorizadas nas proximidades da sala de ordenha e equipamento.

3. Os equipamentos e máquinas da Unidade Educativa de Produção: Bovinocultura, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba – IFPB, Campus Sousa/ Unidade São Gonçalo – PB, podem ser manuseados somente por funcionários habilitados.

4. Os participantes devem estar em condições adequadas de higiene, deve-se evitar o consumo de alimentos e fumo (fumar) durante as atividades.

AÇÕES DE NÃO CONFORMIDADE: A falta de execução desses procedimentos deve ser informada a chefia imediata e comunicada ao executante por meio de documento formal.

ELABORADO POR:	**APROVADO POR:**
COMISSÃO DE ELABORAÇÃO DE POP DAS UNIDADES EDUCATIVAS DE PRODUÇÃO ANIMAL: PORTARIA:206/2023	FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

INSTITUTO FEDERAL
Paraíba
Campus
Sousa

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP): Manejo na UEP de ovinocultura do IFPB-Campus Sousa/Unidade São Gonçalo.		
SETOR: UNIDADE EDUCATIVA DE PRODUÇÃO DE OVINOCULTURA		
IFPB **CAMPUS SOUSA/UNIDADE SÃO GONÇALO**	**PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO**	**Estabelecido em: 02/06/2023** **Revisado em: JUN/2025** **VERSÃO:** Nº 01
ATIVIDADE: Manejo na UEP de Ovinocultura do IFPB – Campus Sousa/ Unidade São Gonçalo.		
OBJETIVO: Orientar os funcionários do IFPB quanto ao manejo dos ovinos, visando realizar as atividades com maior eficiência e segurança do trabalho prestado à instituição e sociedade		
EXECUTANTE: Servidores e colaboradores habilitados, e estagiários das UEP's do IFPB-Campus Sousa/Unidade São Gonçalo.		
ABRANGÊNCIA: Este POP restringe-se ao manejo dos ovinos para a realização de atividades laborais nas dependências do setor de ovinos da fazenda escola, localizada no Campus de São Gonçalo do Instituto Federal da Paraíba (IFPB).		

PROCEDIMENTO:

1- Observar a necessidade de utilização de equipamentos de proteção individual para realização das atividades.

2- Verificar inicialmente as condições adequadas para manuseio ou utilização dos EPIs.

3- Durante o manejo não atender celular ou pessoas (exceto em caso de aulas práticas).

4- Utilizar os equipamentos em conformidade com o seu manual de operações.

5- Manter todos os procedimentos de segurança durante as atividades.

6- Em caso de qualquer anormalidade animal ou nas condições do setor, comunique o superior para tomada de decisão.

7- O manejo dos animais deve ser de forma calma, cautelosa, com o mínimo de estresse e o máximo de conforto possível para os animais.

8- Não permitir que pessoas estranhas toquem, brinquem, aproximem-se dos animais.

9- As atividades de ensino, pesquisa e extensão realizadas por estudantes e estagiários devem ocorrer sob orientação do professor ou técnico responsável pelo setor.

10- Antes de iniciar qualquer atividade com os animais verificar condições de SEGURANÇA relacionadas a equipamentos, portões, tábuas de proteção e quaisquer outros materiais que serão utilizados.

11- No manejo dos animais recém nascidos realizar o corte a queima do cordão umbilical com iodo a 10% uma vez ao dia por três dias seguidos.

12- Fazer as anotações necessárias de nascimentos de acordo com as orientações do Professor (a), médico (a) veterinário (a), ou servidor(a) responsável pelo setor.

13- Animais em condições de parto devem ser monitorados e situações anormais devem ser comunicadas imediatamente ao médico (a) veterinário (a).

14 – O fornecimento de volumoso nos cochos dos animais deve ocorrer às 7:00h e às 13:00h, todos os dias.

15 – O fornecimento de concentrado nos cochos dos animais deve ocorrer às 7:00h e às 15:00h, todos os dias.

16 – O fornecimento de sal mineralizado deve estar a disposição dos animais o dia inteiro e todos os dias.

17 – O corte e fornecimento de capim ou outro suplemento volumoso para os animais, no período seco do ano, deve ocorrer conforme orientação do médico (a) veterinário (a) responsável pelo setor.

18- A aplicação ou uso de qualquer medicação nos animais devem estar sob responsabilidade e orientação do médico (a) veterinário (a).

19. Animais mortos serão encaminhados ao setor de patologia animal do Hospital Veterinário do Campus para a elaboração de laudo cadavérico e posterior descarte.

CUIDADOS GERAIS:

1- Utilizar vestimenta adequada.

2- Solicitar a saída de pessoas não autorizadas nas proximidades do setor.

3- Os equipamentos, máquinas e animais do IFPB podem ser manuseados somente por funcionários habilitados.

4- As pessoas devem estar em condições adequadas de higiene, deve-se evitar o consumo de alimentos e fumo (fumar) durante as atividades.

AÇÕES DE NÃO CONFORMIDADE:

A falta de execução desses procedimentos deve ser informada à chefia imediata e comunicada ao executante por meio de documento formal.

ELABORADO POR:	APROVADO POR:
COMISSÃO DE ELABORAÇÃO DE POP DAS UNIDADES EDUCATIVAS DE PRODUÇÃO ANIMAL: PORTARIA:206/2023	FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA.

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP):
Manejo na UEP de Suinocultura do IPFB-Campus Sousa/Unidade São Gonçalo.

SETOR: Suinocultura

IFPB CAMPUS SOUSA/UNIDADE SÃO GONÇALO	**PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO**	**Estabelecido em:02/06/2023**
		Revisado em:JUN/2025
		VERSÃO: Nº 01

ATIVIDADE: Manejo na UEP de Suinocultura do IFPB-Campus Sousa/Unidade São Gonçalo

OBJETIVO: Orientar os servidores, colaboradores e estagiários quanto ao manejo dos suínos, visando realizar as atividades com maior eficiência e segurança do trabalho prestado.

EXECUTANTE: Servidores e colaboradores habilitados, e estagiários das UEP's do IFPB-Campus Sousa/Unidade São Gonçalo.

ABRANGÊNCIA: Este POP restringe-se ao manejo dos suínos para a realização de atividades laborais nas dependências do setor de suinocultura do IFPB-Campus Sousa/ Unidade São Gonçalo.

PROCEDIMENTO:

Etapas:

1. Observar a necessidade de utilização de equipamentos de proteção individual para realização das atividades.
2. Verificar inicialmente as condições adequadas para manuseio ou utilização dos EPIs.
3. Utilizar os equipamentos em conformidade com o seu manual de operações.
4. Manter todos os procedimentos de segurança durante as atividades.
5. Em caso de qualquer anormalidade no setor comunique o superior para tomada de decisão.
6. Qualquer anormalidade no comportamento dos animais comunicar o superior imediatamente.
7. O manejo dos animais deve ser de forma calma, cautelosa, com o mínimo de estresse e o máximo de conforto possível para os animais.
8. Não permitir que pessoas estranhas toquem, brinquem, aproximem-se dos animais.
9. As atividades de ensino, pesquisa e extensão realizadas por estudantes e estagiários devem ocorrer sob orientação do professor responsável pela disciplina e, ou, pelo servidor efetivo lotado no setor.

10. Antes de iniciar qualquer atividade com os animais verificar condições de SEGURANÇA relacionadas a equipamentos, portões, tábuas de proteção e cachimbos que serão utilizados.

11. No manejo dos animais recém-nascidos realizar o corte do umbigo e a curo do umbigo com iodo a 10% por três dias.

12. Realizar desgaste de dentes e corte de cauda até o segundo dia de vida conforme IN 113/2020 do MAPA.

13. Fazer as anotações necessárias de nascimentos de acordo com as orientações do professor(a) responsável pelo setor ou médico veterinário.

14. Animais em condições de parto devem ser monitorados e situações anormais devem ser comunicadas imediatamente ao médico veterinário.

15. O fornecimento de ração nos cochos dos animais deve ocorrer às 9:00h e às 16:00h, todos os dias.

16. Qualquer anormalidade no comportamento animal deve ser comunicada ao médico veterinário.

17. A aplicação ou uso de qualquer medicação nos animais devem estar sob responsabilidade e orientação do médico veterinário.

18. Qualquer aplicação de medicamento nos animais deverá ser realizada com a devida contenção do animal, com calma, sem pressa e com cuidado para evitar acidentes.

19. Todas as dependências dos animais devem ser limpas diariamente com pá e vassoura, de preferência no início da manhã. Em caso de excesso de material úmido (fezes diluídas) usar jato de água.

20. Os dejetos recolhidos manualmente devem ser dispensados no biodigestor sertanejo.

21. Caso as fêmeas apresentem estro, realizar monta natural, auxiliando se necessário, registrar o tempo de cobertura e anotar as informações na ficha específica.

22. Após o desmame, vistoriar o lote desmamado 6 vezes ao dia por sete dias, observando sinais de diarreia ou isolamento do grupo.

23. Animais mortos serão encaminhados ao setor de patologia animal do Hospital Veterinário, do Campus, para a elaboração de laudo cadavérico e posterior descarte.

24. Verificar bebedouros duas vezes ao dia, sendo manhã e tarde, em caso de falta de água comunicar imediatamente à coordenação de logística e infraestrutura.

25. As dietas serão formuladas por categoria com base nas exigências nutricionais publicadas em livros, sendo considerado a publicação mais recente, e preparadas na

fábrica de ração do IFPB- Campus Sousa/ Unidade São Gonçalo com os ingredientes disponíveis.

26. A ração será armazenada no depósito de ração do setor, sem contato direto com o piso e as paredes.

27. Os partos, sempre que possível, serão assistidos e os primeiros cuidados de limpeza, massagem, corte e cura do cordão umbilical e ingestão de colostro realizados nos primeiros instantes após o nascimento.

28. A vacinação dos animais será realizada com vacinas disponíveis no mercado, sendo os leitões vacinados aos 20 dias (1ª Dose) e aos 50 dias (2ª Dose), as matrizes 30 dias antes do parto e os varrões anualmente.

29. A vermifugação será realizada aos 50 dias de vida dos leitões, 60 dias antes do parto para as matrizes e a cada 180 dias nos varrões.

CUIDADOS GERAIS:

1. Utilizar vestimenta adequada.

2. Solicitar a saída de pessoas não autorizadas nas proximidades do setor.

3. Os equipamentos, máquinas e animais do setor de suinocultura, podem ser manuseados somente por funcionários habilitados.

4. As pessoas devem estar em condições adequadas de higiene, deve-se evitar o consumo de alimentos e fumo (fumar) durante as atividades.

AÇÕES DE NÃO CONFORMIDADE:
A falta de execução desses procedimentos deve ser informada a chefia imediata e comunicada ao executante por meio de documento formal.

ELABORADO POR:	**APROVADO POR:**
COMISSÃO DE ELABORAÇÃO DE POP DAS UNIDADES EDUCATIVAS DE PRODUÇÃO ANIMAL: PORTARIA: 206/2023	FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP):
Registro de entrada e de baixa de semoventes nos setores de produção animal do IFPB-Campus Sousa/Unidade São Gonçalo.

SETOR: UEP's de Produção Animal

IFPB CAMPUS SOUSA/UNIDADE SÃO GONÇALO	**PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO**	**Estabelecido em: 02/06/2023** **Revisado em: JUN/2025** **VERSÃO:** Nº 01

ATIVIDADE: Registro de entrada e de Baixa de animais nos setores de produção do IFPB-Campus Sousa/Unidade São Gonçalo

OBJETIVO: Orientar os servidores para realização do processo de entrada de bens móveis de produção interna (Semoventes) e o pedido de baixa junto ao setor de patrimônio e contábil.

EXECUTANTE: Servidores habilitados.

ABRANGÊNCIA: Este POP restringe-se ao registro de semoventes de produção interna (Nascidos na Instituição) e a baixa de semoventes do IFPB-Campus Sousa/Unidade São Gonçalo.
.

PROCEDIMENTO:

Entrada:

Etapas:

1. Elaborar os seguintes documentos:
    a. Termo de Produção de Semoventes ou Termo de Nascimento, com avaliação do valor do animal;
    b. Demonstrativo do valor do animal;
    c. Ofício preenchido via SUAP; seguindo modelo: Solicitação de registro de entrada de bens ou materiais de produção interna.
2. Gerar processo eletrônico e encaminhar para o DPPE.

Baixas: As baixas podem ocorrer por:

I. Óbito (súbito ou eutanásia nos termos da IN 113/2020 do MAPA);

II. Abate para uso da carcaça em aulas práticas, ou alimentação dos discentes no restaurante.

III. Alienação mediante processo específico dentro da legislação vigente.

I. Baixa por Óbito

Etapas:

1. Elaborar ou reunir os seguintes documentos:
    a. Comunicado do óbito ao DPPE;
    b. Atestado de óbito assinado por médico veterinário
    c. Ofício preenchido via SUAP; seguindo modelo: Solicitação de registro de entrada de bens ou materiais de produção interna.
2. Gerar processo eletrônico e encaminhar para o DPPE.

II. Baixa por ABATE

Etapas:

1. Elaborar ou reunir os seguintes documentos:
    a. Laudo dos animais destinado ao abate;
    b. Ofício preenchido via SUAP; seguindo modelo: Solicitação de registro de entrada de bens ou materiais de produção interna.
2. Gerar processo eletrônico e encaminhar para o DPPE.
    a. Recomendado realizar 30 dias antes do abate previsto,
    b. Relacionar o processo de solicitação de animais para abate.
3. No dia do abate, gerar relatório informando o destino da carcaça do animal e a avaliação do animal no dia do Abate e anexar o mesmo no processo.

III. Baixa por ALIENAÇÃO

Etapas:

1. Elaborar ou reunir os seguintes documentos:
    a. Relatório de alienação elaborado por comissão específica;

b. Ofício preenchido via SUAP; seguindo modelo: Solicitação de registro de entrada de bens ou materiais de produção interna.

2. Gerar processo eletrônico e encaminhar para o DPPE.

CUIDADOS GERAIS:

1. Em caso de mudança na forma de baixa (Ex. Óbito súbito antes do abate ou alienação), informar ao DPPE para as providências cabíveis.

AÇÕES DE NÃO CONFORMIDADE:
A falta de execução desses procedimentos deve ser informada à chefia imediata e comunicada ao executante por meio de documento formal.

ELABORADO POR:	**APROVADO POR:**
COMISSÃO DE ELABORAÇÃO DE POP DAS UNIDADES EDUCATIVAS DE PRODUÇÃO ANIMAL: PORTARIA: 206/2023	FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP):
LABORATÓRIO DE ANATOMIA ANIMAL

SETOR: ANATOMIA ANIMAL

IFPB CAMPUS SOUSA UNIDADE SÃO GONÇALO	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	Estabelecido em: 02/06/2023 Revisado em: JUN/2025 VERSÃO: Nº 01

ATIVIDADE: Anatomia dos Animais Domésticos.

OBJETIVOS:
Conhecimento geral sobre Anatomia Veterinária, com ênfase ao aparelho locomotor, sistema cardiorrespiratório, sistema nervoso, digestório, reprodutor, urinário e técnicas anatômicas.

1- FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A Anatomia Veterinária é a ciência que se incumbe da forma (estrutura e arquitetura) do corpo dos animais domésticos, sem perder de vista seus aspectos funcionais e, como tal, o laboratório de Anatomia visa fornecer ao estudante de medicina veterinária as bases para a compreensão dos processos mórbidos comuns àquelas espécies, o que pressupõe fornecer-lhes os subsídios para o diagnóstico patológico e clínico, a prática das cirurgias veterinárias, para a interpretação de radiografias e imagens ultrassonográficas, para a prática da obstetrícia, assim como dos modernos métodos aplicados à reprodução dos animais. Visa ainda fornecer o conhecimento anatômico para a prática da inspeção em abatedouros, bem como da inspeção e tecnologia de produtos de origem animal.

1

2- MATERIAL/REAGENTES

2 Formol, água oxigenada e água sanitária.

3- PROCEDIMENTOS

Para a rotina do laboratório são utilizados cadáveres de animais advindos do centro de zoonoses do município de Sousa-Paraíba e Setor de Patologia Animal-IFPB. Estes são preparados de imediato ou seguem para congelamento em freezer, para posteriormente ser processado, viabilizando assim material de aporte as aulas de Anatomia Animal.

3

4- EPIs

- Máscara
- Jaleco
- Calça cumprida
- Sapato fechado
- Luvas

4 **- Gorro**

5- GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS

Os resíduos gerados serão colocados em bombonas plásticas armazenadas em câmara fria, as quais serão recolhidas para incineração por empresa especializada de tratamento de resíduos hospitalares.

NORMAS DE HIGIENIZAÇÃO DOS AMBIENTES E EQUIPAMENTOS DOS LABORATÓRIOS

1- OBJETIVO:

- Objetivo desse Procedimento Operacional Padrão - POP é apresentar aos colaboradores dos Laboratórios Acadêmicos dessa IES o conhecimento das regras gerais para limpeza dos laboratórios que norteiam as Boas Práticas nos Laboratórios (BPLs) visando minimizar os riscos, maximizar a eficiência no uso dos laboratórios.

2 – HIGIENIZAÇÃO DE SUPERFÍCIES E EQUIPAMENTOS:

De acordo com a classe de risco que apresenta, o laboratório deve ter sua rotina própria de higienização. Entretanto, de modo geral, devem ser observados procedimentos e periodicidade das rotinas de higienização.

- Após cada aula prática, devem ser retirados os equipamentos/materiais utilizados;

- As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas, pelo menos, uma vez ao dia e sempre depois de qualquer derramamento de material;
- Todos os materiais/equipamentos devem ser adequadamente limpos após a utilização, de acordo com as respectivas rotinas;
- O recolhimento do material utilizado em procedimento práticos, sua limpeza e guarda, é da responsabilidade do corpo técnico do laboratório;
- A limpeza da área geral do laboratório deve ser realizada por pessoal treinado e informado sobre as normas de biossegurança, usando EPI adequado;
- Os resíduos sólidos ou líquidos devem ser inativados ou descontaminados antes de serem descartados corretamente;
- Resíduos biológicos ou com possibilidade de contaminação deve ser descartado em local apropriado;
- Material perfurocortante deve ser descartado em recipientes apropriados e resistentes a perfuração.

Ambientes / Equipamento	**Periodicidade**	**Material utilizado para limpeza**	**EPIs utilizados**	**Procedimento**	**Responsável**
Freezer	Mensalmente	Água, sabão e álcool 70%.	Jaleco, gorro, máscara, sapatos fechados e luvas	Transferir o conteúdo para outro refrigerador; lavar com água e sabão; enxaguar e secar com pano limpo ou papel absorvente antes de ligar e recolocar o material. Após a limpeza, descontaminar com álcool 70%, esfregando as superfícies internas e externas até evaporação.	Técnico do Setor
Lixeiras	Semanalmente	Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio a 1%.	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Lavar com água e sabão; enxaguar; aplicar solução de hipoclorito a 1% e deixar agir por 30 minutos; secar com pano limpo ou papel absorvente.	Higienização
Pia	Diariamente	Água, sabão e álcool 70%	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Limpeza com água, detergente ou sabão neutro e esponja. Quando houver manchas, tirar com esponja de aço e saponáceo. Após a limpeza, fazer a descontaminação com álcool 70% e pano seco e limpo. Esfregando	Higienização

				até evaporar por 2 vezes	
Pisos	Diariamente	Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio a 1%.	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Preparar 1 balde com hipoclorito de sódio 1% (balde A); Preparar outro balde com hipoclorito de sódio 1% (balde B); Iniciar a partir de dentro do local para fora; Molhar o pano ou o MOP na solução de hipoclorito (balde A); Enxaguar o MOP ou o pano na 2ª solução desinfetante (balde B) e aplicar no piso;	Higienização
	Após derramamento de substâncias ou contaminação	Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio a 1%.	Jaleco, gorro, óculos, mascara, sapatos fechados e luvas	Remover a contaminação; lavar o piso com água e sabão; remover o excesso de água; aplicar solução de hipoclorito 1% e deixar agir por 30 minutos; enxaguar e secar com pano limpo e seco.	Técnicos do Setor
Bancadas	Diariamente**:** Antes do início das atividades de cada turno. Após contaminação com respingos ou derramamentos de material biológico	Água, sabão e álcool 70%. Água, sabão, álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1%.		Descontaminação com álcool 70% e pano seco Cobrir a área com papel absorvente ou gaze; Colocar cuidadosamente hipoclorito de sódio a 1%; Deixar agir por 20 minutos; Desprezar os resíduos, no **<u>lixo contaminado;</u>** Limpar a área com água, sabão	Técnicos do Setor e Higienização

				e esponja; Secar com pano e aplicar álcool 70% até evaporação.	
Vidros da janela	Quinzenal	Água, sabão e álcool 70%.	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Se houver sujidade aparente, limpar primeiro com água, detergente ou sabão neutro e esponja ou pano; Pode substituir o detergente pelo limpador multiuso; Aplicar o produto "Limpa vidro" na superfície e esfregar vigorosamente; O "Limpa vidro" pode ser substituído por álcool absoluto; **Retirar o Limpa vidro com pano limpo e seco ou levemente úmido.**	Higienização
Filtro de condicionador de ar	Mensalmente	Água, sabão e hipoclorito a 1%	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Retirar o filtro; Lavar com água e sabão; Deixar de molho na solução de hipoclorito a 1% p/ 30 min; Enxaguar e retira o excesso de água pressionando sobre uma superfície absorvente limpa e recolocar.	Higienização

3- PROCEDIMENTOS USUAIS DE DESINFECÇÃO:

Para desinfecção de ambientes, materiais e pele/mãos, antes ou após as aulas práticas ou procedimentos experimentais, deve-se utilizar soluções adequadas, de acordo com o tipo de procedimento realizado, sendo as mais comuns:

Álcool a 70% (etanol ou isopropílico):

- Utilização: descontaminação da pele, equipamentos e bancadas;
- Procedimento: deve ser utilizado após a superfície ser lavada com água e sabão e retirado o excesso de água; deve-se passar um pano limpo ou papel absorvente embebido com o álcool a70% na superfície a ser descontaminada;
- Tempo necessário para descontaminação: mínimo de 15 minutos;
- **Preparação da solução: 73,3 mL de etanol a 95º + 100 mL de água destilada.**

Hipoclorito de sódio a 1%:

- Utilização: descontaminação de pisos, vidrarias, jalecos e inativação química de material biológico;
- Procedimento: deve ser utilizado após a superfície ou material ser lavado com água e sabão e retirado o excesso de água; deve-se passar um pano limpo ou papel absorvente embebido com a solução na superfície a ser descontaminada, ou mergulhar o material (vidrarias, jalecos, etc.) para que todas as partes fiquem em contato com a solução;
- Tempo de atuação: mínimo de 30 minutos;

Preparação da solução: a água sanitária comercialmente vendida apresenta-se numa concentração de 2 a 2,5%; para obter-se a concentração aproximada a 1%, deve-se diluir em água em partes iguais.

ELABORADO POR:	**APROVADO POR:**
Prof. Salomão Moreira de Figueiredo	_____ FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP):
LABORATÓRIOS DE MICROBIOLOGIA VETERINÁRIA

SETOR: MICROBILOGIA

IFPB CAMPUS SOUSA UNIDADE SÃO GONÇALO HOSPITAL VETERINÁRIO ADÍLIO SANTOS DE AZEVEDO (HV-ASA)	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	Estabelecido em: 02/06/2023 Revisado em: JUN/2025 VERSÃO: Nº 01

ATIVIDADE: Manuseio e limpeza do microscópio

OBJETIVOS:
Definir regras e condutas a serem observadas durante a utilização dos equipamentos de microscopia do laboratório de Microbiologia Veterinária.

1. **PROCEDIMENTOS**

1.1. **Componentes básicos do microscópio**

1.1.1. **Estativa**

É o corpo do microscópio que dá suporte aos outros componentes.

1.1.2. **Revólver porta objetivas**

Suporte rotativo de objetivas, acoplado no braço da estativa.

1.1.3. **Objetivas**

Tubos de lentes que formam a primeira imagem ampliada do objeto. Fornecida geralmentenos aumentos 10x (vezes), 20x, 40x e 100x. As objetivas modernas de 40x vêm com a lente frontal móvel para evitar danos à lâmina e à lente frontal. A objetiva de 40x modernapossui diafragma - íris acionada por anéis para correção da espessura da lamínula.

1.1.4. **Tubo de observação**

Suporte de oculares. Existem três tipos: monoculares, bioculares e trioculares. Neste últimocaso, o terceiro tubo serve para fixação da máquina fotográfica.

1.1.4.1. Ajuste de dioptria

Dioptria é a diferença de capacidade visual de cada olho.

Nos tubos destinados às oculares, existem controles giratórios que permitem o ajuste dadioptria.

1.1.4.2. Ajuste da distância interpupilar

Os tubos das oculares são móveis, para permitir o ajuste da distância interpupilar, quevaria individualmente.

1.1.5. **Oculares**

Tubos com lentes por onde se realizam as observações microscópicas. Fornecidos comaumentos de 10x e 16x.

Para maior comodidade dos usuários de óculos, existem as oculares de campo amplo que permitem a observação com os óculos.

Estas lentes aumentam a imagem virtual formada pelas objetivas. Se a objetiva for de 100xe a ocular de 10x, o resultado será um aumento de 1.000x (10 x 100).

1.1.6. **Condensador**

É um conjunto de lentes colocado logo abaixo da platina do microscópio que concentra efornece luz necessária à iluminação do objeto em estudo.

O diafragma-íris do condensador (diafragma de abertura) é crítico na formação da imagem

Se estiver totalmente aberto, a imagem torna-se menos nítida devido à reflexão da luz aolongo do trajeto ótico e a outros fatores.

Quando muito fechado, se obtém menor resolução e diminuição da nitidez com o aumentoda refringência do material. Para se obter uma boa imagem, o condensador deverá estar mais próximo possível da lâmina.

Organismos de maior tamanho e mais refringentes, como ovos de helmintos e protozoários, tornam-se mais facilmente evidenciados com o condensador um pouco baixoe o diafragma de abertura mais fechado.

1.1.7. **Platina**

Mesa onde são colocadas as preparações para observações microscópicas. Nelas, se encontram acopladas o "charriot", com comandos coaxiais que permitem a movimentaçãonas coordenadas X e Y.

1.1.8. **Charriot**

O "charriot" serve para fixar a lâmina microscópica e movimentá-la em todas as direções.

1.1.9. **Lentes auxiliares**

Existentes em alguns modelos de microscópio que possuem lentes auxiliares abaixo do condensador. Quando disponíveis são somente utilizadas junto com as objetivas de 10x e20x. Sem estas lentes, não é possível obter uma boa iluminação do campo microscópico.

1.1.10. **Diafragma de campo**

Situado na base da estativa e serve para controlar a intensidade luminosa. Possui umdiafragma-íris que pode ser aberto ou fechado através do anel de controle.

1.1.11. **Lente fosca**

Está localizada sobre o diafragma de campo e se destina a melhorar a difusão do feixe luminoso.

1.1.12. **Lente luz do dia**

Lente cinza azulada utilizada para que o feixe luminoso se aproxime da aparência da luznatural. Geralmente é colocada sobre o diafragma de campo.

1.1.13. **Controles de ajuste macrométrico e micrométrico**

O controle macrométrico serve para focalização inicial do objeto e o micrométrico paraajustes finos de focalização.

1.1.14. **Freio do controle macrométrico**

Encontrado na maioria dos microscópios modernos junto ao controle macrométrico,permitindo a regulagem de sua pressão.

1.1.15. **Iluminador**

Situado na parte posterior da base da estativa. O feixe luminoso emitido pela lâmpada é conduzido através de um sistema de lentes até o espelho, situado abaixo do diafragma decampo luminoso, que o conduz para o condensador, passando pela lâmina, objetiva e ocular.

1.1.16. **Voltímetro**

Para redução da energia elétrica de rede para a voltagem da lâmpada.

1.1.17. **Lâmpadas**

Existem dois tipos: incandescentes e de halogênio. As de halogênios fornecem uma iluminação mais eficiente.

1.2 **Microscopia de campo claro**

A microscopia de campo claro tem como aplicações a observação de microrganismos e tecidos corados, a observação de objetos com bastante contraste a fresco, como helmintose seus ovos, e a observação de suspensões de bactérias sem tratamento prévio em lâminas escavadas.

Este tipo de microscopia baseia-se na formação de imagem pela multiplicação doaumento da objetiva pelo aumento da ocular.

A formação de uma imagem nítida está relacionada não só com o grande aumento das objetivas, mas também com sua capacidade de resolução, que é o poder de separar doispontos muito próximos.

Uma ocular de grande capacidade pode produzir uma imagem maior que uma ocularpadrão de 10x, mas como

não haverá um aumento correspondente do poder de resolução, não mostrará maiores detalhes.

1.2.1 **Acessórios**

Os acessórios necessários para microscopia de campo claro são:

a) Lente fosca;
b) Lente luz do dia;
c) Oculares de campo amplo.

1.2.2. **Procedimento**

Ligar o cabo elétrico na tomada;
Ligar a lâmpada;
Colocar o preparado no microscópio;
Ajustar a distância interpupilar (ver 1.4.2) e a dioptria (ver 1.4.1);
Colocar a objetiva de 10x no trajeto de luz;
Encostar o condensador na lâmina;
Regular a intensidade luminosa com o botão de ajuste correspondente, quando existir este dispositivo. A intensidade luminosa deve ser ajustada para cada tipo de objetiva. Quanto maior a capacidade de aumento, maior será a necessidade de iluminação;
Colocar a lente auxiliar em posição, nos microscópios com este dispositivo;
Fixar o preparado microscópico, montado em lâminas perfeitamente limpas, no "charriot" e colocar na posição desejada por meio dos controles coaxiais (Controles nas coordenadasX e Y);
Focalizar com o macrométrico;
Realizar a focalização fina com o controle micrométrico;
Movimentar o controle micrométrico para evidenciar estruturas existentes em vários níveisdo preparado;
Movimentar toda lâmina através dos controles coaxiais de modo regular até encontrar a estrutura procurada;
Se necessitar de maior aumento, colocar as lentes correspondentes em posição e focalizar.
Nota: Não utilizar lentes auxiliares em observações com objetivas de 40x e 100x, pois prejudicam a nitidez da imagem.
A lente frontal do condensador deverá estar na sua posição mais alta para que se possaaproveitar toda a sua capacidade.

1.2.3. **Observação com aumento de 10x**

Geralmente utilizada para focalização de lâminas.

1.2.4. **Observação com aumento de 40x.**

É possível a observação de alguns organismos maiores ou células neste aumento.
É utilizado para pré-focagem do campo, pois torna mais cômoda a focalização fina com aobjetiva de 100x.
Para observação com este aumento é necessário a utilização de lamínulas.
A espessura da lamínula não deve ultrapassar a 0,17 mm. Esta medida vem gravada naobjetiva de 40x.
A espessura da montagem da peça (corte histológico ou esfregaço mais meio demontagem e lamínula) deve ser o mais fina possível.
A espessura excessiva interfere na formação da imagem devido à difração da trajetória dofeixe luminoso.

1.2.5. Observação com aumento de 100x (em óleo de imersão)

É necessário utilizar óleo de imersão para que os raios luminosos não sejam desviadospela camada de ar entre a lente e a lâmina.

- Focalizar o preparado com a objetiva de 40x;
- Colocar uma gota de óleo de imersão sobre o preparado (o óleo de imersão deveapresentar índice de refração n_e = 1,518 e de dispersão de □ = 43);
- Colocar a objetiva de imersão (100x) em posição;
- Encostar a lente frontal da objetiva no óleo por meio da manipulação dos controlescoaxiais do "charriot";
- Focalizar através do controle micrométrico.

1.3. **Utilização de lâminas e lamínulas**

As lâminas devem ser transparentes, livres de manchas e devem medir um milímetro de espessura. As lamínulas devem medir 0,17 mm de espessura para permitir a formação deuma boa imagem.

1.3.1. **Preparo**

- Lavar as lâminas e lamínulas com detergente comum, esfregando uma a uma;
- Enxagüar em água destilada duas vezes para retirar os resíduos;
- Secar e manter em frascos com álcool etílico comercial até o momento do uso.

1.3.2. **Descarte**

As técnicas de coloração nem sempre são suficientes para inativar o organismo presente na lâmina ou lamínula.

As lâminas e lamínulas devem ser tratadas como as demais vidrarias de laboratório, depositadas em frascos contendo desinfetante após o uso e descartadas por meio de tratamento pelo calor úmido.

2. **CUIDADOS COM O MICROSCÓPIO**

2.1**. Durante o uso**

- Nunca soprar as lentes para retirar a poeira, pois micropartículas de saliva podemse depositar nas lentes.
- Nunca usar lenços faciais para limpeza de lentes pois estes podem conter filamentos de vidro que riscam a lente. Poderão ser usados tecido de linho ou algodão hidrófilo.
- Nunca limpar as lentes com o tecido especial para limpeza de lentes seco.
- Seguir rigorosamente as instruções do fabricante do equipamento quanto ao uso desolventes para a limpeza.
- Nunca usar álcool para limpeza de lentes, pois a cola usada na montagem dasmesmas é frequentemente solúvel em álcool.
- Limpar o óleo residual das objetivas ao final de cada uso com algodão hidrófilo, ouuma flanela macia, umedecido em xilol ou em éter-acetona 1:1.
- Nunca deixar os orifícios de conexão das objetivas e oculares abertos.
- Mantê-los fechados por plug de proteção adequados ou com as próprias ocularesou objetivas.
- Não tocar nas lentes com as mãos.
- Somente usar óleo de imersão que atenda a especificação estabelecida pelofabricante.
- Nunca usar óleo de imersão para trabalhos com objetivas que não sejam deimersão. Estes óleos danificam as substâncias de montagem destas objetivas.
- Os microscópios devem ser colocados em superfícies isentas de vibrações e não são recomendadas mudanças de localização.

2.2. **Limpeza**

- **Corpo**

Usar álcool ou uma flanela levemente umedecida com água para limpeza do corpo domicroscópio.

Quando usar a flanela úmida, secar imediatamente com uma flanela seca.

Lubrificar as partes móveis com lubrificante derivado do petróleo, como a vaselina, ou outro lubrificante recomendado pelo fabricante.

- **Lentes e partes óticas**

Retirar a poeira usando ar expulso por bulbo de borracha.

Para limpar as lentes, usar tecido especial para limpeza de lentes levemente umedecido em solução limpadora (ex.: Kodak), específica para lentes de microscópios eequipamentos óticos.

Resíduos de corantes podem ser retirados com algodão hidrófilo embebido em xilol.

3. **CONSERVAÇÃO DE MICROSCÓPIOS**

Esta instrução se destina a estabelecer procedimentos de limpeza e conservação demicroscópios e a prevenção contra fungos nos componentes óticos.

3.1. **Materiais necessários**

Pincéis de pêlo natural desengordurado com álcool-éter;
Panos de algodão macio;
Xilol ou benzina;
Sílica-gel;

Tabletes de paraformaldeído;
Vaselina líquida;
Óleo lubrificante fino para máquina de costura;
Álcool Isopropílico;
Solução Éter-acetona 1:1.

3.2. **Procedimento**

Retirar a poeira das lentes com pincel. Não usar espanador, pano ou camurça para estefim.
As marcas de dedos ou manchas de gorduras devem ser removidas com panos embebidos em benzina ou xilol. Não utilizar álcool que pode dissolver a cola que une aslentes.
A limpeza das objetivas deve ser limitada às lentes frontais e posteriores, roscas esuperfícies externas. Imediatamente após finalização do trabalho, limpar o óleo de imersão da objetiva comflanela limpa e macia, embebida em solução 1:1 de éter-acetona.
Manter o instrumento em local ventilado e seco.
Os microscópios devem ser mantidos em ambiente com umidade relativa abaixo de 65%.Os microscópios devem ser submetidos periodicamente ao arejamento, colocando-os próximos a um ventilador.
Os pequenos componentes que não se encontram em uso devem ser guardados em compartimentos bem secos com sílica-gel no seu interior, salvo instruções em contrário dofabricante.
A sílica-gel hidratada toma a cor rósea e pode ser regenerada em estufa à temperatura de120ºC por algumas horas, recuperando a cor azulada.
Instrumentos quando guardados em caixas devem ser protegidos com tabletes de paraformaldeído.
Cobrir os instrumentos que são mantidos no local de trabalho com protetor que permita a ventilação e colocar tabletes de paraformaldeído sobre a platina.
As partes brilhantes, foscas ou fosfatadas devem ser protegidas com vaselina líquida neutra.
Os parafusos de controle e de fixação de componentes devem ser retirados pelo menos anualmente, lavados com solvente e lubrificados com óleo, pois a graxa utilizada pelo fabricante seca e dificulta a manobra com estas peças. O mesmo deve ser realizado coma engrenagem do “charriot”.

3.3. **Condições consideradas inadequadas para o armazenamento**

- Ambiente com umidade relativa do ar acima de 75%;
- Escuridão e falta de movimento de ar;
- Pó e marcas de dedos nas superfícies de vidro;

4. **EPIs**

- Calça comprida
- Jaleco de manga comprida
- Sapato Fechado

5. **GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS**

Não há geração de resíduos.

ELABORADO POR:	**APROVADO POR:**
Profa. Suely Cristina P. de Lima Oliveira	_____ FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP): LABORATÓRIO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA		
SETOR: ANÁLISES CLÍNICAS (PARASITOLOGIA)		
IFPB CAMPUS SOUSA UNIDADE SÃO GONÇALO HV-ASA	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	Estabelecido em: 02/06/2023 Revisado em: JUN/2025 VERSÃO: Nº 01
ATIVIDADE: Procedimentos Parasitologicos		
OBJETIVOS: Definir regras e condutas a serem executadas no preparo soluções e técnicas laboratoriais de parasitologia.		

1. FLUTUAÇÃO SIMPLES (WILLIS-MOLLAY)

Objetivo: Pesquisa de ovos leves como nematódeos e alguns cestódeos presentes em amostras de fezes em pequenos animais.

Material:

- Tubo de penicilina ou tubo de ensaio (20ml)
- Copos
- Gaze
- Peneira
- Macerador
- Lâmina
- Lamínula
- Balança
- Lugol
- Solução hipersaturada de NaCl
- Microscópio optico
- Pipeta de Pasteur

Solução:

Solução hipersaturada de NaCl

- Adicionar 400g de NaCl em 1L de água;
- Mexer até dissolver o NaCl ao máximo (Sempre fica um pouco de NaCl)
- sem dissolver, forma o “corpo de fundo”);
- Esperar 10 minutos sem mexer a mistura;
- Coar com gaze e peneira para reter a espuma;
- Armazenar em frasco rosqueado.

Procedimento:

- Pesar em um copo 2 gramas de fezes;
- Medir 20ml de solução hipersaturada de NaCl;
- Com um macerador, ir homogeneizando as fezes com a solução hipersaturada;
- Coar em peneira e gaze;
- Colocar o material coado no tubo de penicilina ou no tubode ensaio até formar o menisco (Pode-se adicionar um pouco de Solução hipersaturada se a quantidade de material coado for insuficiente para formação);
- Colocar uma lâmina de vidro e deixar por 10-15minutos;
- Retirar a lâmina e invertê-la bruscamente, sem deixar cair a gota de solução;
- Acrescentar uma gota de lugol (opcional);
- Colocar lamínula e observar em microscópio, aumento de 100x (objetiva de 10x).

2. SEDIMENTAÇÃO SIMPLES (HOFFMAN)

Objetivo: Pesquisa de ovos pesados como alguns cestódeos e Trematódeos.

Material:

- Taça de sedimentação
- Peneira

- Gaze
- Lugol
- Macerador
- Pipeta de Pasteur
- Balança
- Microscópio óptico
- Lâmina e lamínula
- Copos

Procedimento:

- Pesar 5 gramas de fezes
- Medir 50ml de água
- Em um copo, homogeneizar as fezes com água
- Peneirar o material e passa-lo para a taça de sedimentação.
- Acrescentar 100-200ml de água na taça (depende do tamanho da taça).
- Deixar em repouso por 15 minutos
- Decantar o sobrenadante e adicionar ao sedimento 100-200ml de água.
- Deixar em repouso por 15 minutos
- Repetir o processo até o líquido ficar, reduzir a quantidade de sujeira. Geralmente são necessárias três "lavagens".
- Coletar com pipeta algumas gotas de sedimento, acrescentar uma gota de lugol (obrigatório), ler ao microscópio entre lâmina e lamínula.
- Aumento de 100x (objetiva de 10x).
- Se o 1º resultado for negativo, repetir o exame até 3 vezes.

3. RASPADO CUTÂNEO

Objetivo: Pesquisa de ácaros de sarnas.

Material:

- Lâmina de bisturi
- Placa de Petri ou coletor com tampa
- Lâmina e lamínula
- Macerador
- Hidróxido de potássio a 10%
- Pipeta de Pasteur

Microscópio óptico Procedimento:

- Raspar a pele do animal na região da lesão com a lâmina do bisturi (superficial e profundo, até haver extravasamento capilar).
- Colocar o material entre lâminas ou em uma placa de Petri
- Em uma lâmina, colocar material e acrescentar gotas de hidróxido de potássio a 10%, macerar, colocar lamínula.

Leitura:

- Examinar o material em microscópio óptico.
- Aumento de 100x (objetiva de 10x) ou 400x (objetiva de 40). Solução: SOLUÇÃO DE HIDROXIDO DE POTÁSSIO A 10%
- Adicionar 10 gramas de hidróxido de potássio P.A. em 100ml de água destilada;
- Mexer até dissolver completamente;
- Armazenar em frasco rosqueado.

4. CENTRÍFUGO-FLUTUAÇÃO EM SOLUÇÃO DE SACAROSE

Objetivo: Pesquisar principalmente protozoários, tais como: Eimeria spp,Cystisospora spp, Giardia spp, Criptosporidium spp,Toxoplasma sp, Neospora sp, Sarcocystis sp.

Material:

- Tubo Falcon 15 ml
- Peneira
- Gaze
- Solução hipersaturada de sacarose
- Macerador
- Balança
- Lâmina e lamínula
- Alça de platina

- Centrífuga
- Microscópio óptico

Soluçâo:
SOLUÇÃO HIPERSATURADA DE AÇÚCAR
Solução A ("mãe")
- 1kg de açúcar
- 780ml de água
- Ferver até ficar em ponto de calda (+/- 10 minutos fervendo)
- Deixar esfriar.

Solução B (Uso)
- Diluir a Solução A em 3:1 Ou seja:
- 300ml da Solução A + 100 de água 1,205 g/d
- Solução B é a solução de uso. Guardada em geladeira, dura até seis meses.

Procedimento:
- Pesar 2 gramas de fezes
- Medir 20ml de solução hipersaturada de açúcar (Solução "B" USO)
- Homogeneizar, peneirar com gaze.
- Colocar o material filtrado em tubo Falcon de 15ml
- Completar até a marca de 14ml
- Observação: Se faltar, completar com Solução B *USO*
- Tampar com a rosqueada (tampa).
- Colocar na centrífuga
- Nº 04 ou 05 (2000-2500rpm) 10 minutos
- Lembrar de balancear a centrífuga
- Retirar da centrífuga, com cautela.
- Pegar a gotícula de cima do tubo, com a ajuda da alça.
- Colocá-la sobre uma lâmina e uma lamínula bem pequena.
- Fazer leitura na objetiva de 40 (Aumento de 400x)

5. ESFREGAÇO SANGUÍNEO

Objetivo: Técnica utilizada para pesquisa de hemoparasitoses, principalmente: Mycoplasma spp, Ehrlichia spp, Babesia spp, Hepatozoon sp, Anaplasma spp.

Material:
- Lâminas de microscópio
- Panótico
- Pipeta de 10 µl
- Sangue com ou sem EDTA

Procedimento:

Coletar o sangue do animal em um tubo, e, com a pipeta medir os 10µl (uma gota), pingar o sangue no início de uma lâmina (na posição horizontal), colocar a outra de forma inclinada (Ângulo de 45 graus) para espalhar o sangue, e, quando o mesmo se espalhar, deslizar a lâmina inclinada (sem pausar) para espalhar o sangue na superfície da lâmina colocada horizontalmente.

Após esse processo, coloca-la para secar. Em seguida, fixar e corar com o panótico, mergulhando a lâmina oito vezes em cada uma das soluções, e após o último corante, lavar em água corrente de forma delicada para retirar o excesso de corante.

Depois, deixar secar, pingar uma gota de óleo de imersão na parte final do esfregaço e ler em microscópio óptico na objetiva de 100 (aumento de 1000x).

Observação: Esta técnica também pode ser realizada com coleta de material de ponta de orelha (gota de sangue diretamente de um furo realizado com uma agulha 25 x 7 na ponta da orelha do animal), repetindo-se o mesmo processo.

Técnica parasitológica para caprinos e ovinos

6.OPG

Objetivo: Pesquisa e identificação da superfamília Trichostrongyloidea, Strongyloides sp, Trichuris spp. (Nematódeos), Capillaria spp., Moniezia spp.(cestódeo), Eimeria spp. (protozoário)

Material:
- Câmara de McMaster
- Pipeta de Pasteur ou conta-gotas
- Copos
- Peneira

- Gaze
- Solução Hipersaturada de NaCl
- Macerador
- Balança
- Microscópio óptico

Procedimento:

- Pesar 2 gramas de fezes
- Medir 58ml de Solução Hipersaturada de NaCl
- Macerar as fezes em um copo, adicionando gradativamente a Solução Hipersaturada até homogeneizar.
- Coar em gaze e peneira
- Com a pipeta, retirar do sobrenadante, após mexer bem, e preencher a câmara de McMaster, com o cuidado para não ficarem bolhas.

Leitura:

- Levar a câmara de McMaster pronta ao microscópio óptico.
- Fazer leitura em aumento de 100x (Objetiva de 10x) Contar os ovos dos parasitas de ambos os lados, entre as ranhuras.
- Somar os ovos vistos nos dois lados e multiplicar por 100

7.OPG – BOVINOS, SUÍNOS, EQUÍDEOS, AVESTRUZES, ETC.

Objetivo: Pesquisa e identificação da superfamília Trichostrongyloidea, Strongyloides sp, Trichuris spp. (Nematódeos), Capillaria spp, Miniezia spp. (cestódeo), Eimeria spp. (protozoário)

Material:

- Câmara de Mc Master
- Pipeta de Pasteur ou conta-gotas
- Solução hipersaturada de NaCl
- Microscópio óptico
- Copos
- Peneira
- Gaze
- Macerador
- Balança

Procedimento:

- Pesar 4 gramas de fezes
- Medir 56ml de solução hipersaturada de NaCl
- Macerar as fezes em um copo, adicionando gradativamente a solução hipersaturada até homogeneizar. Coar em gaze e peneira
- Após mexer bem, retirar do sobrenadante com a pipeta e preencher a câmara de Mc Master, com cuidado para não ficarem bolhas.

Leitura:

- Levar a câmara de Mc Master pronta ao microscópio
- Fazer a leitura em aumento de 100x (objetiva 10x)
- Contar os ovos dos parasitas de ambos os lados entre as ranhuras
- Somar os ovos vistos nos dois lados e multiplicar por 50.

8. COPROCULTURA

Objetivo: Identificação de Haemonchus sp, Trichostrongylus spp, Oesophagostomum spp,Strongyloides sp.

Material:

- Copo
- Água
- Gaze
- Fezes
- Placa de Petri
- Pipeta de Pasteur
- Lugol
- Microscópio óptico
- Balança

Procedimento:

- Pesar 15 gramas de fezes e macerá-las em um copo até que fiquem bem presas ao fundo do copo
- Ao longo de 8 dias, umedecer essas fezes, sem encharcar, oferecendo condições para as larvas

desenvolverem-se

- Observação: cobrir com gaze para prevenir ovoposição de moscas.
- No 8º dia, acrescentar água ao copo até formar um menisco. Com uma placa de Petri sobre o menisco, virar bruscamente o copo, conforme a imagem abaixo.
- Adicionar água na placa de Petri até completar o assoalho da placa e esperar 4 horas.
- Após 4 horas, coletar apenas a água do assoalho da placa.
- Realizar leitura imediata ou conservar as larvas em geladeira por até 06 meses.

Leitura:

- Homogeneizar material com larvas e acrescentar algumas gotas em lâmina, colocar gota de lugol e ler o material em microscópio optico entre lâmina e lamínula.
- Proceder a identificação de gêneros de larvas
- Identificar 100 larvas (100 primeiras que foram vistas)

Resultado: Exemplo: 80% Haemonchus sp. 10% Trichostrongylus spp. 7% Oesophagostomum spp. 3% Strongyloides sp. A identificação das larvas é feita pela cauda, com o auxílio de uma chave de identificação (chave de Veith).

8. TESTE DE IMERSÃO DE LARVAS COM FIPRONIL

- Preparar solução estoque de Fipronil 1% em Acetona Pura(Geladeira)
- Diluir 0,1041g de Fipronil Tecnicon em 10ml de Acetona P.A.
- Fazer uma pré-diluição de Solução estoque (N.1) em Acetona para obter a solução de trabalho (Fipronil 0,01%)
- Adicionar 100µl da solução estoque (N.1) em 9,9ml de acetona P.A.
- Pegar 5ml da pré-diluição (N.2) e diluir com água destilada até atingir os 50ml da proveta e adicionar 20µl de triton X-100 (Solução de Fipronil 0,001%, concentração final de acetona = 10%, concentração de Triton 0,04%) Pode se conservar a temperatura ambiente
- Preparar como diluente 200ml de acetona 100% em água destilada e Triton 0,02% (180ml de água destilada + 20ml de acetona + 80µl de Triton X).

Concentração final PPM	Volume/ml a pegar da solução 0,001% Fipronil	Volume/ml a completar com diluente (acetona 10% e Triton X 0,04%)	Volume final (ml)
8(DD)	8	2	10
5	5	5	10
4	4	6	10
2.5	2.5	7.5	10
2	2	8	10
1.5	1.5	8.5	10
1.2	1.2	8.8	10
1	1	9	10
0.8	0.8	9.2	10
0.6	0.6	9.4	10
0.4	0.4	9.6	10
0 (Controle)	0 (Controle)	10	10

9. Outras soluções

LÍQUIDO DE RAILLIET-HENRY

- Para cada 1L de solução:
- 50ml de Formol P.A.
- 20ml de Ácido Acético Glacial P.A.
- 930ml de água
- Homogeneizar tudo.

FORMOL A 10%

- Para cada 1L de solução:
- 100ml de Formol P.A.
- 900ml de água.
- Homogeneizar

SOLUÇÃO DE SULFATO DE ZINCO

- Adicionar 33g de Sulfato de Zinco em 100ml de água destilada.

Obs: A água destilada deve estar quente!

- A densidade desejada é de 1.182g/ml.
- Armazenar em frasco rosqueado.

NORMAS DE HIGIENIZAÇÃO DOS AMBIENTES E EQUIPAMENTOS DOS LABORATÓRIOS

1- OBJETIVO:

- Objetivo desse Procedimento Operacional Padrão - POP é apresentar aos colaboradores dos Laboratórios Acadêmicos dessa IES o conhecimento das regras gerais para limpeza dos laboratórios que norteiam as Boas Práticas nos Laboratórios (BPLs) visando minimizar os riscos, maximizar a eficiência no uso dos laboratórios.

2- HIGIENIZAÇÃO DE SUPERFÍCIES E EQUIPAMENTOS:

Cada laboratório, de acordo com a classe de risco que apresenta, deve ter sua rotina própria de higienização. Entretanto, de modo geral, devem ser observados procedimentos e periodicidade das rotinas de higienização.

- Após cada aula prática, devem ser retirados os equipamentos/materiais utilizados;
- As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas, pelo menos, uma vez ao dia e sempre depois de qualquer derramamento de material;
- Todos os materiais/equipamentos devem ser adequadamente limpos após a utilização, de acordo com as respectivas rotinas;
- O recolhimento do material utilizado em procedimento práticos, sua limpeza e guarda, é da responsabilidade do corpo técnico do laboratório;
- A limpeza da área geral do laboratório deve ser realizada por pessoal treinado e informado sobre as normas de biossegurança, usando EPI adequado;
- Os resíduos sólidos ou líquidos devem ser inativados ou descontaminados antes de serem descartados corretamente;
- Resíduos biológicos ou com possibilidade de contaminação deve ser descartado em local apropriado;
- Material pérfuro-cortante deve ser descartado em recipientes apropriados e resistentes a perfuração

Ambientes / Equipamento	Periodicidade	Material utilizado para limpeza	EPI's utilizados	Procedimento	Responsável
Freezers e Geladeiras	Mensalmente	Água, sabão e álcool 70%.	Jaleco, gorro, mascara, sapatos fechados e luvas	Transferir o conteúdo para outro refrigerador; lavar com água e sabão; Enxaguar e secar com pano limpo ou papel absorvente antes de ligar e recolocar o material. Após a limpeza, descontaminar com álcool70%, esfregando as superfícies internas e externas até evaporação	Técnicos do Setor
Lixeiras	Semanalmente	Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio a 1%.	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Lavar com água e sabão; enxaguar; aplicar solução de hipoclorito a 1% e deixar agir por 30 minutos; secar com pano limpo ou papel absorvente.	Higienização
Paredes	Trimestralme	Água e sabão	Uniforme,	Limpeza.	Higienizaçã

	nte		gorro, sapatos fechados e luvas		o
Pias	Diariamente	Água, sabão e álcool 70%	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Limpeza com água, detergente ou sabão neutro e esponja. Quando houver manchas, tirar com esponja de aço e saponáceo Após a limpeza, fazer a descontaminação com álcool 70% e pano seco e limpo. Esfregando até evaporar por 2 vezes.	Higienizaçã o
Pisos	Diariamente	Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio 1%	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Preparar 1 balde com hipoclorito de sódio 1% (balde A); Preparar outro balde com hipoclorito de sódio 1% (balde B) Iniciar a partir de dentro do local para fora; Molhar o pano ou o MOP na solução de hipoclorito (balde A); Enxaguar o MOP ou o pano na 2ª solução desinfetante (balde B) e aplicar no piso;	Higienizaçã o
	Após derramamento de substâncias ou contaminaçã o	Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio a1%.	Jaleco, gorro, óculos, mascara, sapatos fechados eluvas	Remover a contaminação; lavar o piso com água e sabão; remover o excesso de água; aplicar solução de hipoclorito 1% e deixar agir por 30 minutos; enxaguar e secar com pano limpo e seco enxaguar e secar com pano limpo e seco	Técnicos do Setor
Bancadas	Diariamente**:** Antes do início das atividades de cada turno. Após	Água, sabão e álcool 70%.		Descontaminaçã o com álcool 70% e pano seco. Cobrir a área com papel	Técnic os do Setor

	contaminação com respingos ou derramamentos de material biológico	Água, sabão, álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1%;		absorvente ou gaze; Colocar cuidadosamente hipoclorito de sódio a 1%; Deixar agir por 20 minutos; Desprezar os resíduos, no lixo contaminado; Limpar a área com água, sabão e esponja; Secar com pano e aplicar álcool 70% até evaporação.	Técnicos do Setor e Higienização
Vidros da janela	Quinzenal	Água, sabão e álcool 70%.	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Se houver sujidade parente, limpar primeiro com água, detergente ou sabão neutro e esponja ou pano; Pode substituir o detergente pelo limpador multiuso; Aplicar o produto "Limpa vidro" na superfície e esfregar vigorosamente; O "Limpa vidro" pode ser substituído por álcool absoluto; Retirar o Limpa vidro com pano limpo e seco ou levemente úmido.	Higienizaç ão
Filtro de condiciona dor de ar	Mensalmente	Água, sabão e hipocloritoa 1%	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Retirar o filtro; Lavar com água e sabão; Deixar de molho na solução de hipoclorito a 1% p/ 30 min; Enxaguar e retira o excesso de água pressionando sobre uma superfície absorvente limpa e recolocar.	Higienizaç ão
BanhosMaria	Quinzenal	Água, sabão e álcool 70%	Jaleco, gorro, mascara,	Passar a esponja com água	Técnicos do Setor

			sapatos fechados e luvas.	e detergente ou sabão neutro nas superfícies; Retirar o excesso do detergente com um pano umedecedor em água; Passar álcool 70% em todas as superfícies e deixar secar por Evaporação.	
Estufas	Limpeza externa 3 vezes na semana	Água e álcool 70%	Jaleco, gorro, mascara, sapatos fechados e luvas.	O aparelho deve estar desligado; Aplicar pano umedecido em água, removendo a poeira com movimentos retos e firmes.	Técnicos do Setor
Centrifuga	Diariamente após contaminação	Água, sabão e álcool 70% e hipoclorito a 1%	Jaleco, gorro, mascara, óculos, sapatos fechados e luvas.	Retirar as caçapas, suportes e rotor; Lavá-los com água, sabão ou detergente neutro e esponja sob água corrente; Limpar o interior da centrífuga com pano umedecido em água e detergente; Passar álcool 70% , pano seco e limpo até evaporação; Esguichar álcool 70% nas caçapas, utilizando uma pinceta; e deixá-las secarem invertidas. Desligar a centrífuga e aguardar 10 minutos; Retirar as peças desmontáveis e encaminhá-las para autoclavação; Se houver pedaços de vidro, recolher com a pinça e desprezar no coletor para perfurocortantes contaminados;	Técnicos do Setor

				Colocar papel absorvente, gaze ou algodão e cobrir com hipoclorito de sódio 1% o interior da centrífuga; Aguardar 30 minutos; Retirar os resíduos e desprezar no lixo contaminado; Passar pano umedecido com água e detergente e depois álcool 70%.	
Microscópio	Semanalmente	Água, álcool 70% e álcool isopropilico para as objetivas.	Jaleco, gorro, mascara, sapatos fechados e luvas.	Aplicar uma compressa umedecida em água e limpar as superfícies do microscópio. Passa álcool 70% em todas as superfícies do microscópio e deixar secar por evaporação. Limpar as lentes com álcool isopropilico.	Técnicos do Setor
Balança Eletrônica	Semanalmente	Água, sabão e álcool 70%	Jaleco, gorro, mascara, sapatos fechados e luvas.	Desligar a balança, retirar cuidadosamente com um pincel de cerdas macias qualquer resíduo dos pratos, obedecendo ao sentido centrífugo; Passar um pano umedecido em água limpa às superfícies da balança; O prato também deve ser limpo, delicadamente com um pano úmido em água. Se precisar, usar detergente líquido neutro; Passar álcool 70% em todas as superfícies e	Técnicos do Setor

				deixar secar pela evaporação. OBS.: Sempre que houver sujidade aparente, deve-se limpar os resíduos com um pincel de cerdas macias.	

3- PROCEDIMENTOS USUAIS DE DESINFECÇÃO:

Para desinfecção de ambientes, materiais e pele/mãos, antes ou após as aulas práticas ou procedimentos experimentais, deve-se utilizar soluções adequadas, de acordo com otipo de procedimento realizado, sendo as mais comuns:

Álcool a 70% (etanol ou isopropílico):

- Utilização: descontaminação da pele, equipamentos e bancadas;
- Procedimento: deve ser utilizado após a superfície ser lavada com água e sabão eretirado o excesso de água; deve-se passar um pano limpo ou papel absorvente embebido com o álcool a70% na superfície a ser descontaminada;
- Tempo necessário para descontaminação: mínimo de 15 minutos;
- **Preparação da solução: 73,3 mL de etanol a 95º + 100 mL de água destilada.**

Hipoclorito de sódio a 1%:

- Utilização: descontaminação de pisos, vidrarias, jalecos e inativação química de material biológico;
- Procedimento: deve ser utilizado após a superfície ou material ser lavado com água e sabão e retirado o excesso de água; deve-se passar um pano limpo ou papel absorvente embebido com a solução na superfície a ser descontaminada, ou mergulhar o material (vidrarias, jalecos, etc.) para que todas as partes fiquem em contato com a solução;
- Tempo de atuação: mínimo de 30 minutos;
- **Preparação da solução: a água sanitária comercialmente vendida apresenta-se numa concentração de 2 a 2,5%; para obter-se a concentração aproximada a 1%, deve-se diluir em água em partes iguais.**

ELABORADO POR:	**APROVADO POR:**
Profª. Prof. Larissa Claudino Ferreira	_____ FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

<table>
<tr><td colspan="3">PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP):
LABORATÓRIO IMUNOLOGIA E DOENÇAS INFECTOCONTAGIOSAS</td></tr>
<tr><td colspan="3">SETOR: IMUNOLOGIA E DOENÇAS INFECTOCONTAGIOSAS</td></tr>
<tr><td rowspan="3">IFPB
CAMPUS SOUSA
UNIDADE SÃO GONÇALO
HV-ASA</td><td rowspan="3">PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</td><td>Estabelecido em: 02/06/2023</td></tr>
<tr><td>Revisado em: JUN/2025</td></tr>
<tr><td>VERSÃO: Nº 01</td></tr>
<tr><td colspan="3">ATIVIDADE: Procedimentos de diagnóstico laboratórial de doenças infectocontagiosas e análises imunológicas.</td></tr>
<tr><td colspan="3">OBJETIVOS:
Identificar, diagnosticar doenças de caráter infeccioso nos animais domésticos, sendo muitas delas de caráter zoonótico, o que serve também para a tomada de medida preventivas para a sociedade.</td></tr>
<tr><td colspan="3">FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA
É responsável por realizar uma variedade de testes e análises relacionados ao diagnóstico, monitoramento e pesquisa de doenças infecciosas e do sistema imunológico. Algumas das principais atividades realizadas nesse tipo de laboratório incluem: Testes sorológicos para detecção de anticorpos específicos contra o Toxoplasma gondii e o Neospora caninum em amostras de soro sanguíneo de animais domésticos e tecidos. Além de diagnósticos de Brucelose e tuberculose. O setor conta também com o desenvolvimento de pesquisas cientificas voltadas ao diagnóstico de doenças, estudos epidemiológicos, buscando também entender o mecanismo de desenvolvimento de infecções, medidas preventivas.</td></tr>
</table>

EQUIPAMENTOS DO SETOR
Freezer
Geladeira
Microscópio invertido
Microscópio de fluorescência
Microscópios
Aparelho de ELISA
Centrifuga de refrigeração
Agitadores Vórtex
Destilador de água
Banho-maria
Estufas

1. PROCEDIMENTOS

RIFI DE *TOXOPLASMA GONDII*

Materiais necessários:

- Lâminas de teflon
- Amostras de soro (controle positivo e negativo)
- Água destilada
- Placas de ELISA
- PBS Toxo Uso
- Estufa a 37°C
- Aliquota de conjugado
- Azul de Evan
- Glicerina 50%
- Microscópio de fluorescência

1- Retirar do freezer ou congelador as lâminas de teflon e amostras de soro que serão utilizadas, incluindo as amostras de controle positivo e negativo;

2- Lavar com água destilada, evitando o jato de água diretamente nos poços;

3- Colocar as lâminas que serão utilizadas para secar;

4- Em placa de ELISA, diluir o soro em PBS Toxo Uso, de acordo com a **Tabela 1**, uma vez que essa diluição depende da espécie animal a qual pertence o soro;

5- Quando a lâmina de teflon estiver completamente seca, adicionar 20 ou 30 µl da mistura (PBS+Soro) em cada poço da lâmina. O volume da mistura varia devido à dimensão do poço.

***Atenção**, pois no LIDIC existem dois tipos de lâminas (a que tiver o poço menor→ 20 µl, a que tiver o poço maior 30 µl);

***Atenção,** também para identificar as lâminas com lápis grafite, de acordo com a disposição dos soros.

6- Incubar em estufa a 37°C durante 30 minutos;

7-Enquanto a lâmina estiver na estufa, retire a alíquota de conjugado para descongelar;

8-Após 30 minutos, desprezar o conteúdo da lâmina e realizar 3 lavagens de 10 minutos cada com PBS Toxo Uso, depois, colocar a lâmina para secar;

9- Para a diluição do conjugado, seguir a proporção descrita na **Tabela 2.** Essa diluição do conjugado tem que ser feita em PBS Toxo Uso (90%) + Azul de Evan (10%).

Ex.: Se a diluição do Conjugado for 1:700, será da seguinte forma:
700 µl da mistura de PBS Toxo Uso + Azul de Evan (630 de PBS Toxo uso +70 de Azul de Even), retira-se 1 ul da mistura e acrescenta-se 1 µl do Conjugado.

10- Fazer também o cálculo para o volume da diluição do conjudado que irá ser necessário, isso vai depender da quantidade de lâminas que você está utilizando.

Ex.: 1 poço = 30 µl 1 lâmina 12 poços = 360µl

Ex.: 1 poço = 20 µl 1 lâmina 12 poços = 240 µl

11- Importante é sempre proteger contra a luz o conjugado, a sua diluição e a lâmina após adicioná-lo. Esse material é fotossensível, quanto menos contato com luz houver, melhor será a reação.

12 - Após distribuir a diluição do conjugado nos poços da lâmina, incubar em estufa a 37°C por 30 minutos.

13-Realizar novamente mais três lavagens de 10 min cada em PBS Toxo Uso, lembrando de proteger contra a luz.

14-Espere secar, coloque duas a três gotas de Glicerina 50% entre os poços, adicione a lamínula e boa leitura!

RIFI DE *NEOSPORA CANINUM*

Materiais necessários:

- ✓ lâminas de teflon
- ✓ Amostras de soro (Controles positivo e negativo)
- ✓ Placas de ELISA;
- ✓ PBS Neo
- ✓ Estufa a 37°C
- ✓ Aliquota de conjugado
- ✓ Azul de Evan
- ✓ Microscópio de fluorescência

1 - Retirar do freezer ou congelador as lâminas de teflon e amostras de soro que serão utilizadas, incluindo as amostras de controle positivo e negativo;

2 - Lavar com água destilada, evitando o jato de água diretamente nos poços;

3- Colocar as lâminas que serão utilizadas para secar;

4 - Em placa de ELISA, diluir o soro em PBS NEO SORO, de acordo com a **Tabela 1**, uma vez que essa diluição depende da espécie animal a qual pertence o soro;

5- Quando a lâmina de teflon estiver completamente seca, adicionar 20 ou 30 µl da mistura (PBS+Soro) em cada poço da lâmina. O volume da mistura varia devido à dimensão do poço.

* **Atenção**, pois no LIDIC existem dois tipos de lâminas (a que tiver o poço menor→ 20 µl, a que tiver o poço maior→ 30 µl);
***Atenção** também para identificar as lâminas com lápis grafite, de acordo com a disposição soros.

6- Incubar em estufa a 37°C durante 30 minutos;

7- Enquanto a lâmina estiver na estufa, retire a alíquota de conjugado para descongelar;

8- Após 30 minutos, desprezar o conteúdo da lâmina e realizar 3 lavagens de 05 minutos cada Uso, depois, colocar a lâmina para secar, com PBS Neo

9- Para a diluição do conjugado, seguir a proporção descrita na **Tabela 2**. Essa diluição do conjugado tem que

ser feita em PBS Neo Uso (90%) + Azul de Evan (10%).

Ex.: Se a diluição do Conjugado for 1:700, será da seguinte forma:

700 µl da mistura de PBS Neo Uso + Azul de Evan (630 de PBS Neo Uso + 70 de Azul de Even), retira-se 1 µl da mistura e acrescenta-se 1 µl do Conjugado.

10- Fazer também o cálculo para o volume da diluição do conjudado que irá ser necessário, isso vai depender da quantidade de lâminas que você está utilizando.

Ex.: 1 poço = 30 µl 1 lâmina 12 poços = 360 µl

Ex.: 1 poço = 20 µl 1 lâmina = 12 poços = 240 µl

11- Importante é sempre proteger contra a luz o conjugado, a sua diluição e a lâmina após adicioná-lo. Esse material é fotossensível, quanto menos contato com luz houver, melhor será a reação.

12- Após distribuir a diluição do conjugado nos poços da lâmina, incubar em estufa a 37°C por 30 minutos.

13- Realizar novamente mais três lavagens 5 min cada, em PBS Neo Uso, lembrando de proteger contra a luz.

14-Espere secar, coloque duas a três gotas de Glicerina 50% entre os poços, adicione a lamínula e boa leitura!

Tabela 1- Ponto de corte do soro para RIFI de *Toxoplasma gondii e Neospora caninum*

Espécie	***T. gondii***	***N. caninum***
Bovinos	1:64	1:200
Caprinos	1:64	1:50
Ovinos	1:64	1:50
Equideos	1:64	1:50
Suinos	1:64	-
Galinhas	1:16	-
Camundongos	1:16	-
Caninos	1:16	1:50
Felinos	1:16	1:50
Humanos	1:16	-

Tabelo 2 – Diluição do conjugado para RIFI do *Toxoplasma gondii e Neospora caninum*

Espécie	**Conjugado**	**Diluição**
Bovinos	*Anti-bovine*	1:700
Caprinos	*Anti-goat*	1:400
Ovinos	*Anti-sheep*	1:1600
Equideos	*Anti-horse*	-
Suinos	*Anti-pig*	-
Galinhas	*Anti-chicken*	-
Camundongos	*Anti-mouse*	1:1300
Caninos	*Anti-dog*	1:800
Felinos	*Anti-cat*	1:900
Humanos	*Anti-human*	1:1100

SENSIBILIZAÇÃO LÂMINAS *T. GONDII E N. CANINUM*

Materiais necessários:

- ✓ Lâminas de teflon
- ✓ Alcool 70%
- ✓ Éter
- ✓ Câmara de Neubauer
- ✓ Freezer
- ✓ Taquizoitas
- ✓ Microscópio

Procedimento:

1-Limpar lâminas de teflon com solução de álcool +éter;

2- Homogeneizar os taquizoitas da amostra, passando dez vezes em seringa de insulina e depois no vórtex;

3- Fazer a avaliação dos taquizoitas em câmara de Neubauer (avaliar a conformação e a presença de contaminantes);

4- Fazer a contagem de quantas lâminas serão sensibilizadas, a partir da disponibilidade de taquizoitas;

5. Se contar 500 na câmara de Neubauer (onde se contam as hemácias), o valor deve ser multiplicado por 10^4 (fator de correção da contagem na câmara), ou seja 500 x 10^4;

6. Para padronização, adota-se 1200-1500 taq/ µl;

7. No LIDIC, tem dois tipos de lâminas de teflon, independentemente do tipo, o volume a ser adicionado no poço são 20 µl;

8 Cálculo:

Ex.: 40 lâminas x 12 (poços) x 20 µl 9600 µl ou 9,6 ml (volume final necessário)

1500 taq ----------1 µl

X----------1000 µl

X =150 x 10^4 taq/ml (concentração final)

Fórmula: C1x V1-C2x V2

Aplicando o exemplo:

500 x 10' x V-150 x 10 x 10 (arredondado de 9,6)

V_1= 1500/500

V_1= 3 mL (Volume necessário de antígeno)

Dessa forma, de acordo com o exemplo, adiciona-se 3 mL do antígeno em 7 mL de PBS Uso, para completar os 10 ml de volume final necessário, com a concentração de taquizoitas desejada.

9- Fazer a distribuição de 20 µl em cada poço da lâmina, homogeneizar a cada lâmina;

10- Deixar secando em estufa 37°C ou na banca, em repouso;

11. Armazenar no freezer. Sempre identificar o lote/ concentração/ data de sensibilização.

CRIOPRESERVAÇÃO DE CEPAS *T. GONDII*

Materiais necessários:

- ✓ Câmara de Neubauer
- ✓ Microscópio
- ✓ Lavado peritoneal com taquizoitas
- ✓ Soro fetal bovino (SFB)
- ✓ DMSO 20%
- ✓ Botijão de nitrogênio

Procedimento:

1-Quantificar em Câmara de Neubauer o volume de lavado peritoneal que contenha 1 x 10 ml de taquizoitas;

1- Identifique os tubos próprios para criopreservação (tubos de 2 mL) com a cepa, numeração do animal a qual foi proveniente, a data e a quantidade de taquizoitas;

2- Adicionar o volume correspondente que contenha 1 x 10^6 taq/mL. O ideal é que não ultrapasse 200µl., ou seja, tem que estar bem concentrado

3- Separadamente, realize a mistura de Soro Fetal Bovino (SFB) e DMSO, na proporção para que o DMSO fique a 20%, sendo que o volume vai ser definido a partir da quantidade de amostras a serem criopreservadas, É importante que essa mistura esteja resfriada ao entrar em contato com os taquizoitos, porque o DMSO a temperaturas acima de 15 °C são tóxicos para Tgondii

4- Com os tubos contendo os taquizoitas com as tampas abertas, adicione a mistura de SFB e DMSO 20% até que fiquem próximos aos 2ml (Não colocar demais, com a expansão após congelamento, pode haver rompimento da tampa e perda de material),

5- Imediatamente após a adição da mistura rosquear os tubos e colocar no Canister correspondente do Botijão de Nitrogênio. Deixar o Canister levantado, recebendo gradativamente o resfriamento por 20 min. Depois disso, mergulha-lo no nitrogênio e fechar o botijão.

Observação: Com esse protocolo, até hoje (12/05/20) já conseguimos reativar a cepa duas vezes depois dessa criopreservação. Uma mantida por 8 dias em nitrogênio e outra mantida por seis meses.

REATIVAÇÃO CEPAS *T. GONDII*

Materiais necessários:

- ✓ Camundongos cobaias
- ✓ Centrifuga de refrigeração
- ✓ Botijão de nitrogênio
- ✓ Tubos falcon 15 mL
- ✓ Solução fisiológica NaCl 0,9%
- ✓ Materiais para inoculação

Protocolo 1

1- Separar os camundongos para inoculação;

2-Ligar a centrifuga, ligar a refrigeração, programar para 4°C;

3- Selecionar as amostras e os canisters em que se encontram no botijão de nitrogênio;

4- Retirar as cepas do Botijão e deixa-las em temperatura ambiente;

5- Esperar descongelar, quando ainda restar um pélete de gelo, passar cada amostra para um tubo Falcon tamanho 15 mL.

6- Centrifugar a 500g (1040 rpm) por 10 minutos com a centrifuga refrigerada a 4°C,

7-Retirar sobrenadante, acrescentar 1 ml de solução fisiológica de NaCl 0,9%;

8-Imediatamente inocular intraperitoneal.

Observação: Com esse protocolo, o tempo médio para causar óbito no camundongo com a Cepa ME49 é de 8 dias.

PROTOCOLO – BIOENSAIO *T. GONDII*
OVINOS E CAPRINOS

Materiais necessários:

- ✓ Tesouras, pinças, bisturi
- ✓ Papel alumínio
- ✓ Macerador
- ✓ Solução salina 0,85%
- ✓ Mixer
- ✓ Pepsina ácida
- ✓ Becker
- ✓ Banho maria a 37°C
- ✓ Bastão de vidro
- ✓ Gaze
- ✓ Tubos falcon 50 mL
- ✓ Centrifuga
- ✓ Bicarbonato de sódio 1,2%

Procedimento:

1. Cortar os órgãos (coração e diafragma) em pequenos fragmentos, de modo a formar um "pate", envolver em papel aluminio, identificar e reservar,

2. Com o cérebro ainda no saco zipado, macerar o material;

3. Pesar aproximadamente 16,6g de cada órgão (coração, diafragma e cérebro), acrescentando por último o cérebro, de modo a obter-se um total de 50g de tecido;

4. Acrescentar 250mL de solução salina 0,85% e bater com o auxílio de um mixer até dissolver todo fragmento de tecido, obtendo assim uma mistura homogênea;

5. Na mistura obtida, adicionar 250ml. de Pepsina Ácida;

6. Colocar o material em um béquer e deixar em banho maria a 37°C durante 1 hora, homogeneizando a cada 10 minutos com o auxílio de um bastão de vidro;

7. Após isso, coar o material em duas camadas de gaze, colocar em tubos falcon de 50mL e centrifugar a 1200g (2500 rpm) por 10 minutos;

8. Desprezar o sobrenadante, acrescentar em torno de 3mL de Bicarbonato de Sódio 1,2%. Nesse momento ocorre a mudança de cor do sedimento, de rosa para verde lodo;

9. Juntar o material de todos os tubos em um só, completando com Solução Salina 0,85% até atingir 45mL, centrifugar novamente a 1200g (2500 rpm) por 10 minutos.

10. Desprezar o sobrenadante, acrescentar em torno de 3 gotas de antibiótico + antimicótico em cada 1mL de material a ser inoculado.

PROTOCOLO BIOENSAIO TOXOPLAMA GONDII -

GALINHA

Materiais necessários:

- ✓ Tesouras, pinças, bisturi
- ✓ Papel alumínio
- ✓ Macerador
- ✓ Solução salina 0,85%
- ✓ Mixer
- ✓ Pepsina ácida
- ✓ Becker
- ✓ Banho maria a 37°C
- ✓ Bastão de vidro
- ✓ Gaze
- ✓ Tubos falcon 50 mL
- ✓ Centrifuga
- ✓ Bicarbonato de sódio 1,2%

1- Cortar o coração em pequenos fragmentos, de modo a formar um "pate", envolver em papel alumínio, deixar reservado e identificado;

2- Pesar os órgãos (coração e cérebro);

3- Acrescentar 5mL de solução salina 0,85% para cada grama de tecido e bater com o auxílio de um mixer até dissolver todo fragmento de tecido, obtendo assim uma mistura homogênea;

Exemplo: Coração + Cérebro = 7g
Ou seja, 7g x 5mL de sol. salina - 35mL solução salina

4. Na mistura obtida, adicionar 5mL de Pepsina Ácida para cada grama de tecido (ver exemplo anterior)

5- Colocar o material em um béquer e deixar em banho maria a 37°C durante 1 hora, homogeneizando a cada 10 minutos com o auxílio de um bastão de vidro;

6- Após isso, coar o material em duas camadas de gaze, colocar o material em tubos falcon de 50mL e centrifugar a 1200g (2500 rpm) por 10 minutos;

7- Desprezar o sobrenadante, acrescentar em torno de 3mL de Bicarbonato de Sódio 1,2% em cada tubo. Nesse momento, ocorre a mudança de cor do sedimento, de rosa para verde lodo;

8- Juntar o conteúdo dos tubos em um único frasco, completando com Solução Salina 0,85% até atingir 45mL, centrifugar novamente a 1200g (2500 rpm) por 10 minutos.

9- Desprezar o sobrenadante, acrescentar em torno de 3 gotas de antibiótico + antimicótico em cada 1mL de material a ser inoculado.

PEPSINA ÁCIDA

Materiais necessários:

- ✓ Becker
- ✓ Bastão de vidro

* Para 50g de tecido

- ✓ 1,3g de Pepsina
- ✓ 2,5g de NaCl
- ✓ 3,5 mL de Ácido Clorídrico (HCl)
- ✓ Água destilada até completar 250 mL

Obs.: Dissolver a Pepsina por último e homogeneizar com o auxílio de um bastão de vidro.

BICARBONATO DE SÓDIO 1,2%

Materiais:

- ✓ Becker
- ✓ Água destilada

- ✓ Diluir 1,2g de Bicarbonato de sódio P.A. em 100mL de água destilada.

SOLUÇÃO SALINA 0,85%

- ✓ Diluir 8,5g de NaCl em 1L de água destilada.

PBS TOXO MÃE

- ✓ Diluir em 1 litro de água destilada:

• NaCl (Cloreto de sódio - Sal) ----------80g
• KCl (Cloreto de Potássio)) ---------- 2g
• KH2PO4 (Fosfato Monopotássico)) ---------- 2,4 g
• Na2HPO4 (Hidrogenofosfato Dissódico).) ----------14,4 g

PBS TOXO USO

- ✓ Diluir 100mL da Solução Toxo Mãe em 900mL de água destilada

PBS NEO MÃE

• Diluir em 1 litro de água destilada:

- ✓ 11,4g Na_2CO_3
- ✓ 33,6g $NaHCO_3$
- ✓ 8,5g NaCl

PBS NEO USO

• Para preparar 1 litro de PBS Neo Uso, deve-se misturar:

- ✓ 250 ml de PBS Neo Mãe
- ✓ 750 ml de água destilada

PBS NEO SORO

Materiais necessários:

- ✓ Água destilada
- ✓ Agitador magnético
- ✓ NaCl 0,9%
- ✓ Soro fetal bovino
- ✓ Bastão e vidro

Procedimento:

- Diluir em 500 ml de água destilada no agitador magnético:

- ✓ 4,275g NaCl
- ✓ 0,595g Na_2PO_4
- ✓ 0,11g NaH_2PO_4

- Retirar do agitador magnético e adicionar na solução:

- ✓ 5g BSA (Soro Fetal Bovino)

- Homogeneizar lentamente com o auxílio de bastão de vidro.

• Obs.: Para não ficar muita espuma, ir colocando o BSA aos poucos na mistura.

Azul de Evan - Solução MÃE

- ✓ Azul de Evan.....10 mg
- ✓ PBS Toxo USO.....100 mL

Azul de Evan - Solução USO

• Diluir 10mL de Azul de Evan em 90mL de PBS Toxo USO

TESTE DE BRUCELOSE

Materiais necessários:

- ✓ Soro de amostras a serem testadas
- ✓ Antígeno padronizado de Brucella
- ✓ Placas de microtitulação
- ✓ Pipetas e ponteiras descartáveis
- ✓ Agitador de placas
- ✓ Solução salina tamponada (PBS)
- ✓ Centrífuga

Procedimento:

Preparação do soro:

- ✓ Coletar amostras de sangue e separar o soro por centrifugação.
- ✓ Transferir o soro para tubos de ensaio ou microtubos rotulados.

Diluição do soro:

- ✓ Preparar uma série de diluições em série do soro em placas de microtitulação, começando com uma diluição inicial de 1:20.
- ✓ Descartar um volume igual ao retirado na diluição anterior e adicionar o mesmo volume de soro diluído na próxima diluição.
- ✓ Misturar bem cada diluição usando um agitador de placas.

Preparação do antígeno:

- ✓ Diluir o antígeno padronizado de Brucella em PBS, seguindo as instruções do fabricante.
- ✓ Adicionar uma quantidade igual de antígeno diluído em cada poço da placa de microtitulação.

Adição do soro diluído:

- ✓ Adicionar uma gota de cada diluição do soro em cada poço da placa, incluindo um poço controle negativo sem soro.
- ✓ Misturar bem a placa suavemente em um agitador de placas.

Incubação:

- ✓ Cobrir a placa com uma tampa e incubar a temperatura adequada (geralmente entre 37°C a 42°C) por um período de tempo específico (geralmente 1 hora).

Observação e interpretação:

- ✓ Após a incubação, observar os poços da placa contra uma fonte de luz adequada.

- ✓ Verificar se ocorre aglutinação (formação de grumos) em qualquer uma das diluições.
- ✓ A presença de aglutinação em uma diluição específica indica a presença de anticorpos contra Brucella no soro.

NORMAS DE HIGIENIZAÇÃO DOS AMBIENTES E EQUIPAMENTOS DOS LABORATÓRIOS

1**- OBJETIVO:**

- Objetivo desse Procedimento Operacional Padrão - POP é apresentar aos colaboradores dos Laboratórios Acadêmicos dessa IES o conhecimento das regras gerais para limpeza dos laboratórios que norteiam as Boas Práticas nos Laboratórios (BPLs) visando minimizar os riscos, maximizar a eficiência no uso dos laboratórios.

2 – **HIGIENIZAÇÃO DE SUPERFÍCIES E EQUIPAMENTOS:**

Cada laboratório, de acordo com a classe de risco que apresenta, deve ter sua rotina própria de higienização. Entretanto, de modo geral, devem ser observados procedimentos e periodicidade das rotinas de higienização.

- Após cada aula prática, devem ser retirados os equipamentos/materiais utilizados;
- As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas, pelo menos, uma vez ao dia e sempre depois de qualquer derramamento de material;
- Todos os materiais/equipamentos devem ser adequadamente limpos após a utilização, de acordo com as respectivas rotinas;
- O recolhimento do material utilizado em procedimento práticos, sua limpeza e guarda, é da responsabilidade do corpo técnico do laboratório;
- A limpeza da área geral do laboratório deve ser realizada por pessoal treinado e informado sobre as normas de biossegurança, usando EPI adequado;
- Os resíduos sólidos ou líquidos devem ser inativados ou descontaminados antes de serem descartados corretamente;
- Resíduos biológicos ou com possibilidade de contaminação deve ser descartado em local apropriado;
- Material pérfuro-cortante deve ser descartado em recipientes apropriados e resistentes a perfuração.

ELABORADO POR:	**APROVADO POR:**
Profª. Welitânia Inácia Silva/ Profa. Larissa Claudino Ferreira	_____ FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP):
LABORATÓRIO DE ANATOMIA PATOLÓGICA, HISTOPATOLOGIA E CITOLOGIA

SETOR: HISTOPATOLOGIA VETERINÁRIA

IFPB CAMPUS SOUSA UNIDADE SÃO GONÇALO HV-ASA	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	Estabelecido em: 02/06/2023 Revisado em: JUN/2025 VERSÃO: Nº 01

ATIVIDADE: COLETA E PROCESSAMENTO CITOPATOLÓGICO

OBJETIVOS:
Normatizar o procedimento de coleta para exame citopatológico, processamento de lâminas citopatológicas e registro de material.

PROCEDIMENTOS:
COLETA:

- Após solicitação da coleta, preparar a maleta com os seguintes materiais: lâminas de vidro, lápis para lâmina, algodão embebido em álcool 70%, luvas de látex, escovinhas ginecológicas, paquímetro, seringas de 10 ml, agulhas 13 x 0,45mm (“insulina”), 30 x 0,7mm (“cinza”), 25 x 0,8mm (“verde”) e 40 x 1,2 mm (“rosa”), bandeja para transporte;
- Verificar o número do último registro no livro de exames citopatológicos do Laboratório;
- No momento da coleta, requerer a ficha de solicitação e conferir os dados do tutor e do paciente. O recolhimento da ficha de solicitação pela equipe do Laboratório é OBRIGATÓRIO para a liberação do resultado. Registrar o número da ficha;
- Realizar anamnese da lesão: tempo de evolução, fatores desencadeantes, tratamentos prévios, exames prévios, contactantes, acesso à rua, entre outros;
- Em caso de suspeita de neoplasia mamária, investigar o uso de medicamentos anticoncepcionais, castração, ocorrência do último cio, histórico de pseudociese, prenhez, lesão primária ou recorrente.
- Caracterizar a lesão de acordo com os parâmetros estabelecidos na ficha de solicitação. Adicionar outras características relevantes (se existirem). Localizar e mensurar a lesão com auxílio do paquímetro;
- Identificar as lesões por meio de letras, que devem ser igualmente identificadas nas lâminas correspondentes.
- Métodos de coleta: punção por agulha fina, punção aspirativa por agulha fina, escarificação, impressão direta, impressão indireta.
- Organizar o material e descartar pérfuro-cortantes em local apropriado.

COLORAÇÃO:

- Registrar a ficha no livro de registros de exames citopatológicos do Laboratório;
- Após a secagem das lâminas, proceder o método de coloração por panótico rápido, composto por três etapas: o 1. Fixação em álcool metílico: 30 segundos; o 2. Corante acidófilo eosinofílico: 30 segundos. o 3. Corante basofílico: 30 segundos.
- Em caso de materiais de aspecto lipídico, utilizar álcool absoluto para fixação. Tempo de fixação: 15 segundos;
- Lavar as lâminas em água corrente na pia correspondente;
- Aguardar secagem e proceder a leitura;
- Verificar periodicamente a quantidade e a qualidade dos corantes nos recipientes.

NORMAS DE HIGIENIZAÇÃO DOS AMBIENTES E EQUIPAMENTOS DOS LABORATÓRIOS

- As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas, pelo menos, uma vez ao dia e sempre depois de qualquer derramamento de material;
- Todos os materiais/equipamentos devem ser adequadamente limpos após a utilização, de acordo com as respectivas rotinas;
- O recolhimento do material utilizado em procedimento práticos, sua limpeza e guarda, é da responsabilidade do corpo técnico do laboratório;
- A limpeza da área geral do laboratório deve ser realizada por pessoal treinado e informado sobre as normas de biossegurança, usando EPI adequado;
- Os resíduos sólidos ou líquidos devem ser inativados ou descontaminados antes de serem descartados corretamente;
- Resíduos biológicos ou com possibilidade de contaminação deve ser descartado em local apropriado;
- Material pérfuro-cortante deve ser descartado em recipientes apropriados e resistentes a perfuração.

Ambientes/ Equipamento	Periodicidade	Material utilizado para limpeza	EPI s utilizados	Procedimento	Responsável
Freezers e Geladeiras/ Câmara fria	Mensalmente	Água, sabão e álcool 70%.	Jaleco, gorro, mascara, sapatos fechados e luvas	Transferir o conteúdo para outro refrigerador; lavar com água e sabão; enxaguar e secar com pano limpo e recolocar o material. Desconta minar com álcool 70%, esfregando as superfícies internas e externas	Técnicos do Setor
Lixeiras	Semanalmente	Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio a1%.	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Lavar com água esabão; enxaguar; aplicar solução de hipoclorito a 1% e deixar agir por 30 minutos; secar com pano limpo	Higienização
Paredes	Trimestralmente	Água esabão	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Limpeza.	Higienização
Pias	Diariamente	Água, sabão e álcool 70%	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Limpeza com água, detergente ou sabão neutro e esponja. Quando houver manchas, tirar com esponja de aço e saponáceo. Após a limpeza, fazer a descontamin ação com álcool 70% e	Higienização

				pano seco e limpo.	
Pisos	Diariamente após derramamento de substâncias ou contaminação	Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio a1%. Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio a1%.	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas Jaleco, gorro, óculos, mascara, sapatos fechados e luvas	Preparar 1 balde com hipoclorito de sódio 1% (balde A); Preparar outro balde com hipoclorito de sódio 1% (balde B) Iniciar a partir de dentro do local para fora; Molhar o pano ou o MOP na solução de hipoclorito (baldeA); Enxaguar o MOP ou o pano na 2ª solução desinfetante (balde B) e aplicar no piso; Remover a contaminação; lavar o piso com água e sabão; remover o excesso de água; aplicar solução de hipoclorito 1% e deixar agir por 30 minutos; enxaguar e secar com pano limpo e seco.	Higienização Técnicos do Setor
Bancadas	Diariamente**:** Antes do início das atividades de cada turno. Após contaminação com respingos ou	Água, sabão e álcool 70%. Água, sabão, álcool		Descontaminação com álcool 70% e pano seco Cobrir a área com papel absorvente ou gaze;	Técnicos doSetor Técnicos do Setor e Higienização

	derramamentos de material biológico	70% e hipocloritode sódio a1%;		Colocar cuidadosamente hipoclorito de sódio a 1%; Deixar agir por 20 minutos; Desprezar os resíduos, no **lixo contaminado:** Limpar a área com água, sabãoe esponja; Secar com pano e aplicar álcool 70% até evaporação.	

PROCEDIMENTOS USUAIS DE DESINFECÇÃO:

desinfecção de ambientes, materiais e pele/mãos, antes ou após as aulas práticas ou procedimentos experimentais, deve-se utilizar soluções adequadas, de acordo com o tipo de procedimento realizado, sendo as mais comuns:

Álcool a 70% (etanol ou isopropílico):

- Utilização: descontaminação da pele, equipamentos e bancadas;
- Procedimento: deve ser utilizado após a superfície ser lavada com água e sabão e retirado o excesso de água; deve-se passar um pano limpo ou papel absorvente embebidocom o álcool a70% na superfície a ser descontaminada;
- Tempo necessário para descontaminação: mínimo de 15 minutos;
- Preparação da solução: 73,3 mL de etanol a 95º + 100 mL de água destilada**.**

Hipoclorito de sódio a 1%:

- Utilização: descontaminação de pisos, vidrarias, jalecos e inativação química de material biológico;
- Procedimento: deve ser utilizado após a superfície ou material ser lavado com água e sabão e retirado o excesso de água; deve-se passar um pano limpo ou papel absorvente embebido com a solução na superfície a ser descontaminada, ou mergulhar o material (vidrarias, jalecos, etc.) para que todas as partes fiquem em contato com a solução;
- Tempo de atuação: mínimo de 30 minutos;

Preparação da solução: a água sanitária comercialmente vendida apresenta-se numa concentração de 2 a 2,5%; para obter-se a concentração aproximada a 1%, deve-se diluir emágua em partes iguais.

ELABORADO POR:	**APROVADO POR:**
Profª. Lisanka Angelo Maia	_____ FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP):
LABORATÓRIO DE ANATOMIA PATOLÓGICA, HISTOPATOLOGIA E CITOLOGIA

SETOR: ANATOMIA PATOLÓGICA, HISTOPATOLOGIA E CITOLOGIA VETERINÁRIA

IFPB CAMPUS SOUSA UNIDADE SÃO GONÇALO HV-ASA	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	Estabelecido em: 02/06/2023 Revisado em: JUN/2025 VERSÃO: Nº 01

ATIVIDADE: Necropsia de animal doméstico

OBJETIVOS:
Realizar o exame necroscópico em animal doméstico.

1- FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA:

Realizar exame post mortem minucioso, verificando qualquer alteração que possa estar presente em qualquer um dos sistemas orgânicos do cadáver do animal (sistema nervoso, cardiorrespiratório, gastroentérico, hematolinfático, musculoesquelético reprodutor etegumentar).

2- MATERIAL/REAGENTES:

Facas, pinças anatômicas, cabos e lâminas de bisturi, solução de formol tamponado a 10%, potes de plástico ou vidro (armazenar fragmentos de tecidos), tesoura cirúrgica, podão, machadinha, serras, alicates, tábua de cortar, régua, seringas, fundo para fotos, câmera fotográfica.

3- PROCEDIMENTOS

Formar equipes com os alunos (dividindo o material solicitado).

- Ler atentamente a solicitação de necropsia, (histórico, sexo, raça, idade, suspeita clínica).
- Avaliar as características externas da carcaça do animal (estado de conservação, condição corporal, coloração das mucosas orais, conjuntivais, presença de ectoparasitas, lesões cutâneas, fraturas, etc.).
- Avaliar as características macroscópicas internas do cadáver do animal (posicionamento dosórgãos, coloração dos tecidos, presença ou ausências de hemorragias, pigmentações patológicas por bilirrubina (icterícia).
- Realização de exame necroscópico.

* Após desarticular os membros pélvicos na articulação fêmuro-acetabular, realizar o mesmo procedimento nos membros torácicos com auxílio de uma faca. Fazer uma incisão mento- pubiana, e rebater todo o tegumento do animal, verificando alguma alteração caso exista.

- Abrir a cavidade abdominal pela linha alba com auxílio de cabo e lâmina de bisturi, após, realizar a inspeção de todos os órgãos abdominais (coloração, consistência, localização, formato, tamanho, presença de corpos estranhos).
- Abrir a cavidade torácica com auxílio de um podão (alicate de poda), cortando as costelas, após aberta, inspecionar os órgãos da cavidade torácica (coloração, consistência, localização,formato, tamanho presença de líquidos ou sangue no interior da cavidade). Em caso de animal macho, abrir a bolsa escrotal, avaliar os testículos.
- Desarticular a cabeça da carcaça do animal, rebater a pele com uma faca, e abrir a crânio com auxílio da machadinha, após aberta, realizar uma incisão com o bisturi, na superfície da meninge, observando criteriosamente, retirar o cérebro inteiro com cautela.
- Após avaliação macroscópica de todos os órgãos, deve ser coletado um pequeno fragmentode cada tecido e armazenado no pote de plástico ou vidro contendo solução de formol tamponado a 10% para fixação dos tecidos e posterior análise histopatológica.

4- EPIs:

Macacão, galocha, touca, luva, máscara e óculos de proteção.

5- GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS:

Os resíduos gerados serão colocados em bombonas plásticas armazenadas em câmara fria,as quais serão recolhidas para incineração por empresa especializada de tratamento de resíduos hospitalares.

NORMAS DE HIGIENIZAÇÃO DOS AMBIENTES E EQUIPAMENTOS DOSLABORATÓRIOS

1- OBJETIVO:

- Objetivo desse Procedimento Operacional Padrão – POP, é apresentar aos colaboradores dos Laboratórios Acadêmicos dessa IES o conhecimento das regras gerais paralimpeza dos laboratórios que norteiam as Boas Práticas nos Laboratórios (BPLs) visando minimizar os riscos, maximizar a eficiência no uso dos laboratórios.

2 – HIGIENIZAÇÃO DE SUPERFÍCIES E EQUIPAMENTOS:

Cada laboratório, de acordo com a classe de risco que apresenta, deve ter sua rotina própria de higienização. Entretanto, de modo geral, devem ser observados procedimentos e periodicidade das rotinas de higienização.

- Após cada aula prática, devem ser retirados os equipamentos/materiais utilizados;
- As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas, pelo menos, uma vez ao dia esempre depois de qualquer derramamento de material;
- Todos os materiais/equipamentos devem ser adequadamente limpos após a utilização,de acordo com as respectivas rotinas;
- O recolhimento do material utilizado em procedimento práticos, sua limpeza e guarda,é da responsabilidade do corpo técnico do laboratório;
- A limpeza da área geral do laboratório deve ser realizada por pessoal treinado e informado sobre as normas de biossegurança, usando EPI adequado;
- Os resíduos sólidos ou líquidos devem ser inativados ou descontaminados antes deserem descartados corretamente;
- Resíduos biológicos ou com possibilidade de contaminação deve ser descartado emlocal apropriado;
- Material pérfuro-cortante deve ser descartado em recipientes apropriados e resistentesa perfuração

Ambientes/ Equipamento	**Periodicidade**	**Material utilizadopara limpeza**	**EPI s utilizados**	**Procedimento**	**Responsável**
Freezers e Geladeiras/ Câmara fria	Mensalmente	Água, sabão e álcool 70%.	Jaleco, gorro, mascara, sapatos fechados e luvas	Transferir o conteúdo para outro refrigerador; lavar com água e sabão; enxaguar e secar com pano limpo e recolocar o material. Descontaminar com álcool 70%, esfregando as superfícies internas e externas	Técnicos do Setor
Lixeiras	Semanalmente	Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio a1%.	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Lavar com água e sabão; enxaguar; aplicar solução de hipoclorito a 1% e deixar agir por 30 minutos; secar com pano limpo	Higienização

Paredes	Trimestralmente	Água esabão	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Limpeza.	Higienização
Pias	Diariamente	Água, sabão e álcool 70%	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Limpeza com água, detergente ou sabão neutro e esponja. Quando houver manchas, tirar com esponja de aço e saponáceo. Após a limpeza, fazer a descontaminação com álcool 70% e pano seco e limpo.	Higienização
Pisos	Diariamente após derramamento de substâncias ou contaminação	Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio a1%.	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas Jaleco, gorro, óculos, mascara, sapatos fechados e luvas	Preparar 1 balde com hipoclorito de sódio 1% (balde A); Preparar outro balde com hipoclorito de sódio 1% (balde B) Iniciar a partir de dentro do local para fora; Molhar o pano ou o MOP na solução de hipoclorito (baldeA); Enxaguar o MOP ou o pano na 2ª solução desinfetante (balde B) e aplicar no piso; Remover a contaminação; lavar o piso com água e sabão;	Higienização Técnicos do Setor

				remover o excesso de água; aplicar solução de hipoclorito 1% e deixar agir por 30 minutos; enxaguar e secar com pano limpo e seco.	
Bancadas	Diariamente**:** Antes do início das atividades de cada turno. Após contaminação com respingos ou derramamentos de material biológico	Água, sabão e álcool 70%. Água, sabão, álcool 70% e hipocloritode sódio a1%;		Descontaminação com álcool 70% e pano seco Cobrir a área com papel absorvente ou gaze; Colocar cuidadosamente hipoclorito de sódio a 1%; Deixar agir por 20 minutos; Desprezar os resíduos, no **<u>lixo contaminado:</u>** Limpar a área com água, sabãoe esponja; Secar com pano e aplicar álcool 70% até evaporação.	Técnicos doSetor Técnicos do Setor e Higienização

3- PROCEDIMENTOS USUAIS DE DESINFECÇÃO:

Para desinfecção de ambientes, materiais e pele/mãos, antes ou após as aulas práticas ou procedimentos experimentais, deve-se utilizar soluções adequadas, de acordo com o tipo de procedimento realizado, sendo as mais comuns:

Álcool a 70% (etanol ou isopropílico):

- Utilização: descontaminação da pele, equipamentos e bancadas;
- Procedimento: deve ser utilizado após a superfície ser lavada com água e sabão e retirado o excesso de água; deve-se passar um pano limpo ou papel absorvente embebidocom o álcool a70% na superfície a ser descontaminada;
- Tempo necessário para descontaminação: mínimo de 15 minutos;
- Preparação da solução: 73,3 mL de etanol a 95º + 100 mL de água destilada**.**

Hipoclorito de sódio a 1%:

- Utilização: descontaminação de pisos, vidrarias, jalecos e inativação química de material biológico;
- Procedimento: deve ser utilizado após a superfície ou material ser lavado com água e sabão e retirado o excesso de água; deve-se passar um pano limpo ou papel absorvente embebido com a solução na superfície a ser descontaminada, ou mergulhar o material (vidrarias, jalecos, etc.) para que todas as partes fiquem em contato com a solução;
- Tempo de atuação: mínimo de 30 minutos;

Preparação da solução: a água sanitária comercialmente vendida apresenta-se numa concentração de 2 a 2,5%; para obter-se a concentração aproximada a 1%, deve-se diluir emágua em partes iguais.

ELABORADO POR:	APROVADO POR:
Profª. Lisanka Angelo Maia	_____ FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP): LABORATÓRIO DE BIOLOGIA MOLECULAR		
SETOR: **BIOLOGIA MOLECULAR**		
IFPB CAMPUS SOUSA UNIDADE SÃO GONÇALO HV-ASA	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	Estabelecido em: 02/06/2023 Revisado em: JUN/2025 VERSÃO: Nº 01
ATIVIDADE: PROCEDIMENTOS DE BIOLOGIA MOLECULAR		

OBJETIVOS:
Normatizar o procedimento de manipulação com material genérico para fins diagnósticos e identificação de genérica de microorganismos.

1. SETORES DO LABORATÓRIO

1.1 Extração de DNA

Este setor conta com bancada, armários, freezer, geladeira, centrifugas, termobloco, centrifuga refrigerada com rotor para tubos e capela de exaustão. A principal finalidade do setor é a extração e purificação de DNA.

1.2 Lavagem

Este setor conta com pia de metal. A principal finalidade do setor é dar suporte aos procedimentos realizados no Laboratório de biologia molecular.

1.3 Preparação de PCR

Este setor conta com bancadas, armários, freezer, geladeira, termocicladores para microplacas, estações de trabalho para PCR e microcentrífuga. A principal finalidade do setor é a montagem das reações de PCR e amplificação dos fragmentos de DNA.

1.4 Eletroforese

Este setor conta com bancada, armário, balança, cuba de eletroforese, fontes de eletroforese, equipamento de foto-documentação e microondas. A principal finalidade do setor são os procedimentos de eletroforese de DNA e produtos de PCR, bem como da foto-documentação dos mesmos. Este setor conta com um freezer e uma geladeira para armazenamento dos reagentes e produtos amplificados, além de uma pia para lavagem de vidraria.

1.5 Uso geral

Este setor conta com uma bancada central. A principal finalidade do setor é dar suporte aos procedimentos realizados no Laboratório de biologia molecular. Este setor conta com um freezer.

2. PREPARAÇÃO PARA O EXPERIMENTO

2.1. O usuário deve providenciar um caderno para as anotações referentes aos procedimentos e protocolos do projeto

2.2. O usuário deve receber treinamento do coordenador do BioMol.

2.3. É de responsabilidade do usuário planejar as atividades, de modo que não faltem reagentes ou materiais durante os procedimentos bem como tempo para executar a tarefa.

2.4. O usuário deve usar roupas adequadas dentro do laboratório: jaleco, calças compridas, calçado fechado, cabelos presos e não usar adereços grandes (brincos, anéis, pulseiras, etc).

2.5. O usuário deve vestir luvas (látex sem talco) quando estiver trabalhando com reagentes tóxicos ou irritantes e durante procedimentos em que possa ocorrer contaminação de amostras, reagentes ou do próprio local de trabalho.

2.6. O usuário deve organizar seu material de trabalho em local determinado pelo coordenador do laboratório (geladeira, freezer, armário ou gaveta).

2.7. É imperativo agendar o uso dos equipamentos. O não cumprimento dos horários agendados caracteriza

desrespeito aos demais usuários. Caso surja necessidade de alterar ou cancelar horários agendados, os usuários devem comunicar a mudança, ao coordenador do BioMol, com no mínimo um dia de antecedência.

2.8. Os reagentes serão comprados ou confeccionados pelos usuários e se caracterizam pelo uso comum entre os usuários. Os de uso exclusivo são aqueles diretamente vinculados (comprados e/ou confeccionados) a um projeto específico, sendo seu uso uma exclusividade dos usuários que participam do projeto.

2.9. Todo o material de uso não comum (uso exclusivo) deve estar identificado e organizado nos espaços reservados a eles.

2.10. Todo material em uso deve estar devidamente identificado; deve-se rotular imediatamente qualquer reagente ou solução preparada e as amostras coletadas com nome do reagente e concentração molar, nome da pessoa que preparou e data.

2.11. Limpe a bancada antes e depois de usá-la, com papel-toalha e álcool 70%.

2.12. Ao terminar os procedimentos no laboratório, o usuário deve retornar todos os materiais (pipetas, espátulas, objetos de escritório, manuais, reagentes, etc) e equipamentos para os locais de onde foram removidos.

3. PROCEDIMENTO

3.1 Extração de DNA:

1. Os procedimentos visando extrações de DNA devem ser realizados na bancada central do laboratório. Extrações com fenol ou clorofórmio, devem ser realizadas em capela de exaustão.
2. O uso das centrífugas para extração deve ser preventivo. É exigida a limpeza do equipamento após o uso.

3.2. PCR:

1. A montagem das reações de PCR deve ser realizada exclusivamente nas câmaras assépticas (fluxo laminar)
2. É vedada a entrada de DNA nas câmaras assépticas
3. O DNA deve ser adicionado ao PCR na bancada central do laboratório.
4. Todos os equipamentos dentro da câmara asséptica devem ser limpos com papel toalha e álcool 70% depois de utilizados
5. NUNCA utilizar os equipamentos de dentro da câmara asséptica (micropipetadores, etc) em outras áreas do laboratório.

3.3. Eletroforese:

1. A agarose de uso geral deve ser reutilizada (número limitado de vezes - consultar o coordenador).
2. O tampão (TBE) de eletroforese deve ser trocado a cada sete usos.
3. O usuário que estiver usando a cuba pela sétima vez é responsável pela troca do tampão por um novo, bem como pela lavagem da cuba.

<u>Tris/Borato/EDTA (TBE)</u>
0,89 M Tris base 108g
0,89 M ác. bórico 55g
0,02 M EDTA 4ml de EDTA 0,5 m Ph 8,0

3.4 Descarte de Material

1. O pessoal terceirizado é responsável pela limpeza, cabe somente a retirada dos conteúdos das lixeiras simples e a limpeza do chão/piso com pano molhado. Não é permitido varrer o chão, para evitar nuvem de poeira.
2. Não reutilizar material plástico (ponteiras, microtubos, etc).
3. O gel de agarose deve ser descartado em lixo contaminante para posterior incineração
4. Na impossibilidade de um descarte imediato, o lixo deve ser armazenado adequadamente.

4. EPIs

- Calça comprida
- Jaleco de manga comprida
- Sapato Fechado
- Máscara
- Luvas sem talco

5. GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS

Os resíduos gerados serão destinados a armazenamento temporário no lixo contaminante, e depois serão recolhidos seguindo protocolos de descarte de resíduos químicos preconizados pela Comissão Ambiental do IFPB.

6. CONSIDERAÇÕES GERAIS DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS

6.1. É proibida a entrada de alimentos no laboratório. O laboratório não dispõe de equipamentos para armazenar alimentos e bebidas dos usuários.

6.2. Não deixar equipamentos elétricos ligados no laboratório após o expediente sem autorização e sem anotar no quadro de avisos.

6.3. É proibido o uso de reagentes tóxicos e voláteis fora da capela de exaustão.

6.4. Todos os equipamentos utilizados devem ser limpos após o uso.

ELABORADO POR:	**APROVADO POR:**
Profª. Carla Monadeli Filgueira Rodrigues	_____ FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP): LABORATÓRIO DE INFORMÁTICA		
SETOR: **INFORMÁTICA**		
IFPB CAMPUS SOUSA UNIDADE SÃO GONÇALO	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	Estabelecido em: 02/06/2023 Revisado em: JUN/2025 VERSÃO: Nº 01
ATIVIDADE: Diretrizes para utilização de recursos de TI disponibilizados no laboratório de Informática.		

OBJETIVOS:
Estabelecer condutas e diretrizes para o manuseio de recursos tecnológicos alocados no laboratório de informática.

1- DESCRIÇÃO DO LABORATÓRIO DE INFORMÁTICA

Um laboratório de informática é um espaço físico equipado com computadores, periféricos e recursos tecnológicos, destinado ao ensino, aprendizado, pesquisa e prática de atividades relacionadas à área de informática e tecnologia da informação. Esses laboratórios são comumente encontrados em instituições educacionais, empresas, centros de pesquisa e outras organizações que dependem do uso intensivo de computadores.

No âmbito do curso de Medicina Veterinária, o LI destina-se para utilização no desenvolvimento de atividades acadêmicas e curriculares, além do uso da internet como ferramenta de pesquisa sobre assuntos acadêmicos, maximizando assim o acesso à informação.

2- OBJETIVOS

- Pesquisa e estudo de casos: Os alunos podem utilizar o laboratório de informática para realizar pesquisas em bancos de dados científicos, buscar informações sobre doenças e condições veterinárias, explorar estudos de casos clínicos e acessar artigos científicos relevantes. Isso permite que eles aprofundem seus conhecimentos e compreendam melhor os conceitos teóricos aprendidos em sala de aula.

- Acesso a recursos educacionais online: O laboratório de informática permite que os alunos acessem plataformas de aprendizado online, cursos e materiais educacionais específicos para a medicina veterinária. Isso amplia suas oportunidades de aprendizado, permitindo que eles explorem conteúdos adicionais, participem de fóruns de discussão e acessem recursos multimídia, como vídeos e animações.

- Além desses exemplos, o laboratório pode promover o acesso a softwares de edição de documentos, planilhas, apresentações e outros aplicativos de produtividade também é essencial para que os alunos realizem tarefas acadêmicas, redijam relatórios, elaborem apresentações e desenvolvam trabalhos científicos.

3- PROCEDIMENTO PARA ALOCAÇÃO DO LABORATÓRIO

- Solicitar a Direção de Ensino, por meio de processo eletrônico no SUAP, o agendamento para utilização do Laboratório de Informática.
- Após a confirmação, será obtido o acesso durante a data agendada.

4- PROCEDIMENTO PARA DE INICIALIZAÇÃO E DESLIGAMENTO DO LABORATÓRIO

- Verificar se todos os computadores estão desligados;
- Ligar os computadores e monitores seguindo a sequência correta;
- Verificar se a rede está funcionando corretamente;
- Realizar testes de conectividade com a internet;
- Desligar todos os computadores e monitores ao encerrar as atividades.

5- PROCEDIMENTO DE USO DOS SOFTWARES E RECURSOS DO LABORATÓRIO

- Orientar os usuários sobre os softwares disponíveis e suas funcionalidades;
- Instruir os usuários sobre as políticas de uso de softwares licenciados;
- Gerenciar o acesso aos recursos compartilhados do laboratório, como impressoras e servidores;
- Monitorar o uso adequado dos softwares e recursos;
- Fornecer treinamento básico sobre o uso de ferramentas e aplicativos específicos.

6- REGRAS DE UTILIZAÇÃO DO LABORATÓRIO DE INFROMÁTICA

I. É proibida a entrada com lanches e/ou bebidas no laboratório;

II. Todos os sites acessados e operações efetuadas através da rede do laboratório deverão ser compatíveis com a aula, pesquisa, avaliação e ambiente acadêmico. É expressamente proibido o acesso a sites impróprios como: pornografia, jogos, vídeos fora do contexto da atividade a ser realizada, redes sociais de qualquer natureza, entre outros;

III. É proibida a instalação de qualquer tipo de software nos equipamentos por parte dos usuários. A solicitação de instalação deverá ser realizada via e-mail, pelo docente responsável, onde deverão ser anexados os softwares ou links com antecedência mínima de 96 horas;

IV. É proibida a utilização de arquivos portáteis de qualquer software que não tenha prévia e expressa autorização do Técnico de Laboratório para serem utilizados;

V. As estações são voltadas para fins acadêmicos, dessa forma não se orienta a abrir contas bancárias, e-mails, chats (bate-papos) ou qualquer outro tipo de conta pessoal de qualquer natureza;

VI. O usuário é responsável pela segurança e integridade de suas informações armazenadas durante a utilização no computador, o curso não se responsabiliza por quaisquer arquivos e senhas armazenados em seus equipamentos;

VII. O curso não se responsabiliza por qualquer software/arquivo que seja excluído e/ou perdido de mídias removíveis de qualquer natureza, pois, sistemas de segurança farão a verificação e análise sistemática de qualquer periférico conectado às estações;

VIII. Os usuários devem preservar o património do laboratório, não sendo permitida a movimentação/remoção de quaisquer componentes dos computadores, nem mesmo cabos, mouses, teclados, entre outros, sem a devida autorização;

IX. É proibido realizar download/upload de qualquer software sem licenciamento (Pirataria corporativa), podendo ocorrer punição de acordo com a Lei 9.609/98, esta, estabelece que a violação de direitos autorais de programas de computador é crime, punível com pena de detenção de 6 meses a 4 anos e multa, além de ser passível de ação cível indenizatória;

X. Os usuários devem respeitar docentes, técnicos, monitores, estagiários, terceirizados e demais usuários, mantendo a ordem, disciplina, respeito aos pares e silêncio no recinto;

XI. O usuário que desrespeitar este regulamento ficará sujeito às penalidades determinadas pelo curso no âmbito do Instituto.

ELABORADO POR:	**APROVADO POR:**
Prof. Thiago Alves Sobreira	FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP):
LABORATÓRIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA

SETOR: **ANÁLISES CLÍNICAS**

IFPB CAMPUS SOUSA UNIDADE SÃO GONÇALO HV-ASA	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	Estabelecido em: 02/06/2023 Revisado em: JUN/2025 VERSÃO: Nº 01

ATIVIDADE: ANÁLISES CLÍNICAS VETERINÁRIAS

OBJETIVOS:
Analisar diversos tipos de amostras biológicas como: sangue total, urina, fluido ruminal, líquido cefalorraquidiano, efusões cavitarias, teste de compatibilidade sanguínea, oriundas das clínicas médica de pequenos animais e grande animais do Hospital veterinário do IFPB campus Sousa.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA
A patologia clínica veterinária é a especialidade que tem como objetivo a execução e interpretação dos exames laboratoriais, auxiliando médicos veterinários no diagnóstico, acompanhamento e direcionamento de diversas doenças. Os achados laboratoriais através das amostras biológicas direciona o clínico a uma hipótese diagnóstica, além de estabelecer o estágio de uma doença, indicar o prognóstico e monitorar tratamento.

EQUIPAMENTOS DO SETOR
Freezer
Geladeira hematoimuno
Analisador hematológico automático BC-2800 Vet- Mindray
Homogeneizador
Centrifuga (2)
Banho-Maria
Agitador Vórtex
Analisador bioquímico SX- 3000 M – semi-automático
Agitador magnético
Refratômetro
Microscópios
Balança analítica

10- PROCEDIMENTOS

2.1 Recebimento de amostras

A qualidade da amostra está diretamente ligada a confiabilidade dos resultados, muitas vezes, amostras inadequadas inviabilizam os procedimentos, além disso, a correta identificação da amostra é imprescindível para a fase analítica, portanto:

1. ACONDICIONAMENTO DA AMOSTRA

- Observar condições da amostra:
  - ✓ Volume insuficiente (**amostra condicional**)
    - o Volumes pequenos de amostras podem não ser representativos para estudos clínicos. Informar a inviabilidade da amostra, e solicitar nova coleta.
  - ✓ Excesso de anticoagulantes (**amostra condicional**)
    - o O excesso de anticoagulante prejudica a análise hematológica, ocasionando hemodiluição e crenação eritrocitária.
  - ✓ Presença de coágulos, microcoágulos e excesso de fibrina (**amostra rejeitada**)
    - o O coágulo interfere nos resultados de todas as séries sanguíneas.
  - ✓ Amostras colhidas em frascos inadequados (**amostra rejeitada**)
    - o Compromete diretamente na confiabilidade da amostra.
  - ✓ Amostra com mais de 6 horas, mantida sem refrigeração (**amostra rejeitada**).
    - o A cada 30 min a confiabilidade da amostra diminui, amostras sem devido acondicionamento só suportam até 6 horas a partir da coleta.
  - ✓ Amostra de urina deverão ser trazidas em potes descartáveis, no mínimo 5 ml, com ficha devidamente preenchida informando a forma de coleta.
  - ✓ Amostras de análise de líquidos cavitários, cefalorraquidiano, deverão ser colhidos em dois tubos: um contendo EDTA e outro sem EDTA, e encaminhados imediatamente ao laboratório para análise. Amostras sem condicionamento adequado e não coletados em ambos os tubos pode não ter o resultado completo do exame **(Amostra condicional)**

OBS.: Em casos especiais, se a amostra foi colhida a mais de 6 horas, mas foi devidamente condicionada, a amostra poderá ser considerada condicional.

- Verificar se a ficha de solicitação está preenchida corretamente, com ênfase na espécie do animal, veterinário solicitante e data da coleta.
- Verificar se existem problemas na amostra (coágulo, fibrina, volume insuficiente, amostra não identificada, falta de amostra, frasco errado etc.).

OBS.: Caso haja carência em algum dos itens acima, solicitar a adequação, informando e registrando a lápis na ficha de registro o problema verificado.

- Estando em conformidade, colocar uma ordem de serviço, seguindo a sequência do livro de registro, encaminhar para o setor de cadastro interno do exame e direcionar a amostra para o seu respectivo setor (hematologia, bioquímica, urinálise, análise de líquidos cavitários, liquido cefalorraquidiano).

2. CADASTRO DO EXAME:

- Verificar a identificação do tubo (nome ou número do animal).
- Verificar dados do animal na ficha de solicitação (identificação, espécie, raça, sexo e idade).
- Verificar o veterinário solicitante (assinatura ou carimbo).
- Conferir quais exames foram solicitados.
- Preencher o livro de registros seguindo os exames solicitados pelo médico veterinário

HEMATOLOGIA
PREPARAÇÃO

Início do dia

- Ligar todos os equipamentos na tomada (Centrífuga, homogeneizador, banho-maria);
- Contador automatizado de células Mindray.
1° Passo: Ligar o aparelho (Botão atrás do aparelho)
2° Passo: Esperar a inicialização do aparelho. Qualquer dúvida deve-se chamar o funcionário ou residente do setor.

1. PREPARAR MATERIAIS:
1.1. Lenços de papel
1.2. Caixa de lâminas
1.3. Lâmina extensora
1.4. Caixa de tubos capilares
1.5. Massa para tubo capilar

2. PROCESSAMENTO AUTOMATIZADO NO APARELHO HEMATOLÓGICO:
2.1. Será usado uma lâmina de microscopia, para cada sangue. Então deixe-as já separadas, no local apropriado para confecção das lâminas.

2.2. Pegar a ficha de solicitação de exame do primeiro sangue da remessa, e fazer o cadastro do mesmo no aparelho

- Espécie (verificar a espécie do animal, e se preciso mudá-la):

- Logo em seguida, fazer homogeinização da amostra de sangue com EDTAno mínimo vezes.

-Após isso, colocar a amostra na agulha de aspiração na parte inferior do aparelho apertar no botão de aspiração que fica por trás da agulha de aspiração de coloração azul

- Em dois minutos, o aparelho fornece informações com um histograma dos resultados da amostra.

- Este irá fornecer informações sobre: WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, PLT*, MPV, PDW, PCT (parâmetros para todas as espécies programadas).

- O diferencial leucocitário e contagem de plaquetas deverá ser corrigido na lâmina de esfregaço.

- Clique no retângulo em branco
- Na lateral direita do visor irá aparecer um teclado virtual no qual você deverá digitar o RGHV do animal.

PREPARAÇÃO DO ESFREGAÇO SANGUÍNEO:

- ✓ Preencher com sangue o tubo capilar para microhematócrito. Limpar as partes externas do tubo com papel toalha/higiênico.
- ✓ Em seguida, com a lâmina de microscopia apoiada na bancada ou suspensa horizontalmente entre os dedos indicador e polegar do operador, depositar uma gota em uma das extremidades da lâmina (mais

ou menos a 1 cm da extremidade). Essa não deverá ser espessa, nem muito pequena.

- ✓ Com a extensora posicionada segundo recomendação do fabricante, encostá-la na lâmina um pouco à frente da gota, em ângulo aproximado de 30 – 45º. Em seguida, retorná-la para entrar em contato com o sangue. Quando essa tocar a gota, realizar movimentos para cima e para baixo ou direito e esquerdo, fazendo com que o sangue se disperse por toda a extremidade da extensora.
- ✓ Realizar movimento para frente com a extensora, devendo ser esse sutil e uniforme, nem muito rápido ou lento, até a formação da cauda do esfregaço sanguíneo (aproximadamente 2/3 da superfície da lâmina).
- ✓ Secar o esfregaço imediatamente após a sua realização, utilizando movimentos manuais ou uma fonte de ventilação.
- ✓ Identificar o esfregaço com o nome e ordem de serviço do paciente na parte inicial desse.
- ✓ Se necessário, completar o volume de sangue do capilar (3/4 do tubo), limpando novamente a parte externa. Vedar uma das extremidades com a massa selante e assinalar na ficha, usando um lápis, a posição na qual o capilar daquele animal se encontra na microcentrífuga.
- ✓ Após o término do procedimento mergulhar delicadamente a extremidade da extensora na solução de água oxigenada presente em cima da bancada e secar com papel adequado.

OBS.: 1. Um esfregaço sanguíneo adequado deve possuir três partes marcadamente distintas: cabeça/corpo, área de leitura e cauda.
2. É Importante se utilizar lâminas limpas, desengorduradas e sem arranhões, bem como uma extensora de extremidade íntegra e sem sangue ressecado (sempre limpar a extensora de um esfregaço para outro retirando qualquer resquício de sangue presente).

PROTEÍNAS PLASMÁTICAS TOTAIS (PPT):

MÉTODO: Refratometria.
AMOSTRA: Plasma com EDTA.
MATERIAIS E EQUIPAMENTOS:
- ✓ Água destilada.
- ✓ Refratômetro.
- ✓ Papel absorvente liso.

TÉCNICA:
Antes do uso do refratômetro em cada remessa, verificar se esse se encontra calibrado. Para tanto, deposita-se água destilada na superfície do prisma e fecha-se a tampa. Em seguida, é realizada a leitura direcionando-o para uma fonte luminosa. Caso a marcação da coluna azul esteja sobre o “W” na parte inferior da coluna graduada a esquerda, o aparelho estará zerado. Caso contrário, utilizar a chave presente no kit do refratômetro para girar o parafuso superior e com isso ajustar a coluna na referida marcação. Após isso, secar com papel absorvente liso a superfície umidificada e iniciar o uso na rotina.

- ✓ Com os capilares preenchidos, vedados e identificados coloque-os na centrifuga e deixe-os centrifugando na velocidade por 5 minutos. **Em caso de caprinos o tempo deve ser de 15 minutos e ovinos no mínimo 10 minutos.**

- ✓ Verificar a característica do plasma antes da sua deposição no refratômetro. Esse pode estar normal, hemolisado, ictérico, lipêmico.

- ✓ Quebrar o capilar logo acima da camada de leucócitos e plaquetas (pode-se utilizar uma lixa de unhas para tal propósito) e depositar o plasma sobre a superfície do prisma do refratômetro. Não encostar ou bater o vidro nessa superfície para não danificá-la.

- ✓ Em seguida, direcionar o refratômetro para uma fonte luminosa e realizar a leitura analisando a marcação da coluna azul na graduação à esquerda, sendo essa geralmente de zero a doze, no qual cada traço equivale a duas unidades.

COLORAÇÃO PANÓTICO RÁPIDO

MÉTODO: Coloração do tipo Romanowsky de afinidade ácido-básica.
AMOSTRA: Esfregaços sanguíneos/citológicos.
MATERIAIS E EQUIPAMENTOS:

- ✓ Kit de coloração Panótico Rápido.
- ✓ Tubos para imersão da lâmina.
- ✓ Pinça/instrumento para movimentar o esfregaço na sequência de coloração.
- ✓ Água corrente.

TÉCNICA:

- ✓ Após a secagem do esfregaço sanguíneo, imergi-lo no Panótico 1 (solução de triarilmetano a 0,1%) por 5 – 15 segundos.

- ✓ Tirar o excesso de fixador pressionando a lâmina sobre uma superfície de papel toalha, imergindo-a em seguida no Panótico 2 (solução de xantenos a 0,1%) por 10 – 15 segundos.

- ✓ Tirar o excesso do primeiro corante pressionando a lâmina sobre uma superfície de papel toalha e imergi-la no Panótico 3 (solução de tiazinas 0,1%) por 15 – 20 segundos.

- ✓ Lavar imediatamente a lâmina em água corrente e deixá-la secar.

Obs.: Os tempos descritos podem variar de acordo com o fabricante, tempo de uso dos corantes e preferências do microscopista.

CONTAGEM TOTAL/GLOBAL DE HEMÁCIAS

MÉTODO: Manual/hemocitômetro de Neubauer em macrodiluição.
AMOSTRA: Sangue total com EDTA.
MATERIAIS E EQUIPAMENTOS:

- ✓ Solução diluidora (Gower, Hayem, Solução salina 0,9%).
- ✓ Tubo de ensaio.
- ✓ Pipeta automática.
- ✓ Ponteiras.
- ✓ Câmera/Hemocitômetro de Neubauer.

TÉCNICA:

1. Homogeneizar o sangue do tubo coletado com EDTA.
2. Diluir 20 µL de sangue em 1000 µL (4 mL) de solução diluidora em um tubo de ensaio.
3. Homogeneizar a solução em movimentos de inversão do tubo de ensaio.
4. Depositar a solução em um dos lados da câmara de Neubauer (aproximadamente 10 – 12 µL preenche totalmente o retículo).
5. Contar cinco quadrados dos vinte e cinco quadrados do quadrante maior central, sendo esses escolhidos em diagonal ou então os quatro dos vértices mais o central.

6. O resultado total das hemácias contadas será multiplicado por 10.000 (valor arredondado), obtendo-se assim o número de células/µL de sangue.

HEMATÓCRITO/VOLUME GLOBULAR MANUAL

MÉTODO: Microhematócrito.
AMOSTRA: Sangue total com EDTA.
MATERIAIS E EQUIPAMENTOS:

- ✓ Capilares para microhematócrito.
- ✓ Massa selante para microhematócrito/bico de Bunsen ou similar.
- ✓ Microcentrífuga/Centrífuga para microhematócrito.
- ✓ Tabela de leitura de microhematócrito.

TÉCNICA:

1. Homogeneizar o sangue do tubo coletado com EDTA.
2. Preencher o capilar para microhematócrito (preenchimento por capilaridade) até ¾ ou 75% do volume do mesmo.
3. Limpar a parte externa do capilar com papel para retirada de sangue adicional.
4. Fechar com massa selante ou fogo uma das extremidades do capilar.
5. Posicionar o capilar nos espaços apropriados na microcentrífuga com a parte selada para a periferia da mesma (parte fechada para fora em contato com a borracha circular). Verificar se os capilares estão bem encaixados.
6. Centrifugar os capilares em rotação fixa do fabricante e tempo conforme a espécie:
   - ✓ Caninos, felinos, equinos, suínos: 5 min.
   - ✓ Ovinos: 10 min.
   - ✓ Caprinos: 15 min.
7. Ler na tabela apropriada a extensão da camada de hemácias compactadas, alinhando o final da coluna de plasma na linha 100, bem como a interface massa selante/início da camada eritrocitária na linha zero. Anotar o valor em porcentagem.

CONTAGEM TOTAL/GLOBAL DE LEUCÓCITOS

MÉTODO: Manual/hemocitômetro de Neubauer em macrodiluição.
AMOSTRA: Sangue total com EDTA.
MATERIAIS E EQUIPAMENTOS:

- ✓ Solução corante/diluidora (Turk, Thoma).
- ✓ Tubo de ensaio.
- ✓ Pipeta automática.
- ✓ Ponteiras.
- ✓ Câmera/Hemocitômetro de Neubauer.

TÉCNICA:

1. Homogeneizar o sangue do tubo coletado com EDTA.
2. Diluir 10 µL de sangue em 200 µL de solução corante/diluidora em um tubo de ensaio.
3. Homogeneizar a solução com movimentos manuais conduzidos na parede do tubo.
4. Depositar a solução em um dos lados da câmera de Neubauer (aproximadamente 10 – 12 µL preenche totalmente o retículo).
5. Contar os quatro quadrados maiores das laterais, sendo cada um desses divididos em dezesseis quadrados menores.

6. O resultado total dos leucócitos contados será multiplicado por 50 (valor arredondado), obtendo-se assim o número de células/µL de sangue.

MENSURAÇÃO DE HEMOGLOBINA UTILIZANDO APARELHO BIOQUÍMICO SEMI-AUTOMÁTICO

MÉTODO: Reação de ponto final com redução de hemoglobina e ligação com cianeto
AMOSTRA: Sangue total com EDTA.
MATERIAIS E EQUIPAMENTOS:

- ✓ Reagente de trabalho para dosagem de hemoglobina.
- ✓ Tubo de ensaio.
- ✓ Pipeta de vidro.
- ✓ Pêra ou Pipetaidor.
- ✓ Água destilada.
- ✓ Pipetas automáticas e ponteiras.
- ✓ Bioquímico semi-automático em analisador bioquímico SX-3000M

TÉCNICA:

1. Colocar 2,5 mL da solução de trabalho em 2 tubos de ensaio. Um deles servirá como “Blank” da reação e o outro para reagir com a amostra.
2. Adicionar a essa solução 10 µL de sangue. **É importante que o excesso de sangue ao redor da ponteira seja cuidadosamente limpado com um papel**
3. Homogeneizar a solução com a amostra com movimentos manuais conduzidos na parede do tubo.
4. Colocar a amostra na agulha de sucção e acionar o botão de acionamento
5. Aguardar o resultado impresso.

CONTAGEM DE PLAQUETAS

MÉTODO: Estimativa em esfregaço sanguíneo.
AMOSTRA: Esfregaço sanguíneo.
MATERIAIS E EQUIPAMENTOS:

- ✓ Extensão sanguínea.
- ✓ Microscópio óptico.

TÉCNICA:

1. Posicionar o esfregaço sanguíneo na área de leitura, sendo essa a mesma utilizada para contagem diferencial de leucócitos e análise morfológica dos elementos figurados do sangue.
2. Em objetiva de 100x contar as plaquetas em dez campos da área selecionada.
3. Multiplicar o resultado final por 2.000 (em oculares regulares) ou 1.500 (em oculares de campo amplo). Anotar o resultado da concentração de plaquetas/µL de sangue.

CONTAGEM DE RETICULÓCITOS

MÉTODO: Coloração por corantes supravitais (Novo Azul de Metileno, Azul Cresil Brilhante).
AMOSTRA: Sangue total com EDTA.
MATERIAIS E EQUIPAMENTOS:

- ✓ Tubo de ensaio.
- ✓ Pipeta automática.
- ✓ Corante supravital.
- ✓ Banho-maria.
- ✓ Lâminas para microscopia.

- ✓ Lâmina extensora.
- ✓ Corante Romanowsky (opcional).
- ✓ Microscópio óptico.

TÉCNICA:

1. Homogeneizar o sangue do tubo coletado com EDTA.
2. Pipetar uma parte do sangue e diluir em uma parte de NAM ou em duas partes de Azul Cresil Brilhante.
3. Homogeneizar e incubar em banho-maria a temperatura de 37° em um tempo mínimo de 15 – 30 min.
4. Homogeneizar novamente após a incubação.
5. Confeccionar esfregaços sanguíneos e contracorar em Romanowsky segundo o padrão de coloração para extensões de sangue periférico (essa última metodologia é opcional).
6. Contar 500 ou 1000 hemácias em microscopia com objetiva de 100x e quantificar os reticulócitos em porcentagem.
7. Corrigir a contagem de reticulócitos adequando ao Ht do animal, bem como obter o número absoluto dessas células conforme fórmulas abaixo:

RETICULÓCITOS CORRIGIDOS (%): % reticulócitos contados em 500 ou 1000 hemácias x Ht do animal/Ht médio da espécie.

CONTAGEM DE RETICULÓCITOS (/µL): % de reticulócitos x total de hemácias (/µL)

PESQUISA DE HEMOPARASITAS

MÉTODO: Direto em hemoconcentrado.
AMOSTRA: Sangue com EDTA.
MATERIAIS E EQUIPAMENTOS:

- ✓ Microcentrífuga.
- ✓ Tubos para microhematócrito.
- ✓ Lâminas para microscopia.
- ✓ Lixa para unhas (opcional).
- ✓ Massa vedante/bico de Bunsen.

TÉCNICA:

1. Repita a sequência técnica descrita para a obtenção do hematócrito.
2. Após o fim da centrifugação, quebrar o capilar imediatamente abaixo da camada leucocitária utilizando uma lixa para unhas (a utilização desse instrumento é opcional, podendo o capilar ser quebrado manualmente, entretanto, para um rompimento mais fácil e circunscrito indica-se a lixa).
3. Deposite o material do creme leucocitário e da camada plaquetária na extremidade de uma lâmina de microscopia. Caso o material fique muito espesso, divida com outras lâminas.
4. Faça *squash*/esfregaços para estender o material sobre as lâminas.
5. Realize a coloração Panótico Rápido segundo técnica previamente especificada.

LEUCOMETRIA GLOBAL CORRIGIDA (LGC)

MÉTODO: Cálculo matemático.
PRINCÍPIO: Quando houver quantidade de eritroblastos igual ou superior a 10%, a contagem total de leucócitos deverá ser corrigida segundo fórmula matemática abaixo:
LGC = Leucócitos totais contados x 100/100 + eritroblastos.

URINÁLISE

MÉTODO: Exames físico, químico e sedimentoscópico.
AMOSTRA: Urina. Quantidade mínima de **5 mL** para exame sedimentoscópico representativo.
MATERIAIS E EQUIPAMENTOS:

- ✓ Luvas
- ✓ Dois tubos cônicos de vidro graduados
- ✓ Pipetas de 10, 20 e 200 µl
- ✓ Tubo de ensaio
- ✓ Lâmina e lamínula
- ✓ Tiras regentes para urinálise
- ✓ Ponteiras
- ✓ Refratômetro
- ✓ Papel toalha absorvente

OBSERVAÇÕES GERAIS

- ✓ É desejável que a análise seja realizada logo após a coleta da urina, pois alguns elementos podem ser perdidos ao longo do tempo (p.ex., elementos celulares)
- ✓ Caso não seja possível, o processamento subsequente a coleta, refrigerar a amostra por no máximo 4 horas, para conservá-la, e evitar proliferação bacteriana.
- ✓ Aquecer a amostra de urina à temperatura ambiente antes de processá-la, caso a mesma tenha sido refrigerada, pois as tiras reagentes são termo sensíveis.

TÉCNICA:

1. EXAME FÍSICO

As propriedades físicas incluem volume, cor, aspecto e densidade.
1.1. Com a ficha em mãos, mensurar o volume da amostra total encaminhada ao laboratório (geralmente as amostras vem acondicionadas em seringas ou em recipientes próprios para urina, em ambos, o volume de urina é discriminado).
1.2. Avaliar a cor e transparência da amostra utilizando como padrão a tabela presente na bancada e em seguida anotar os achados na ficha.
1.3. Mensurar a densidade da urina, para isso, pipetar 20 µl da amostra, transpor para o refratômetro e verificar a coluna do lado direito. Mensurações de densidade entre 1000 e 1040 podem ser determinadas.

OBS.: Em amostras muito concentradas nas quais o resultado ultrapasse o limite da escala (1.040) realizar a seguinte diluição: 20 µl de agua destilada + 20 µl da amostra, homogeneizar com a própria pipeta e com esta diluição proceder a leitura da densidade. Multiplicar os dois últimos algarismos por dois sendo o resultado desta multiplicação a densidade real da amostra.

2. EXAME QUÍMICO

2.1. Utiliza as tiras reagentes para urinálise.
2.2. Forrar a bancada com papel absorvente e em cima deste separar uma tira reagente.
2.3. Pipetar 200 µl da amostra e cuidadosamente dispensar uma gota em cada quadrado de reação.
2.4. Aguardar o tempo necessário (cerca de 60 segundos) para que as reações ocorram e em seguida proceder a leitura dos resultados, considerando as concentrações quantitativas dos seguintes analitos: leucócitos, nitrito, urobilinogênio, proteína, sangue oculto, cetonas, bilirrubina, glicose, utilizando os dados do recipiente do qual as tiras foram retiradas e anotando-os no local adequado na ficha do paciente.
2.5. Descartar a tira utilizada no lixo laboratorial.

1. MICROSCOPIA DO SEDIMENTO

3.1. Centrifugar a amostra dentro de um tubo cônico por 5 minutos a 1.500 rpm (velocidade 3).
3.2. Terminada a centrifugação, pipetar o sobrenadante em um tubo de ensaio identificado com o nome do

paciente e seu RGHV. Deixando no tubo cônico o volume de 0,5 ml de sobrenadante.
3.3. Em seguida, ressuspender o sedimento, certificando-se de que não reste nenhum corpo de fundo.
3.4. Separar uma lâmina de microscopia e uma lamínula na bancada.
3.5. Seguir com a preparação da lâmina com sedimento puro: pipetar 20 µl do sedimento ressuspendido, depositar no centro da lâmina e cuidadosamente colocar a lamínula em cima da gota, certificando-se que a amostra se espalhe homogeneamente.
3.6.Efetuar leitura da lâmina no microscópio na objetiva de 40x e anotar na ficha do paciente os achados observados.
OBS.: 1. Caso haja necessidade, devem ser realizados sedimentos urinários corados segundo o protocolo:

a. Obter uma gota do sedimento urinário ressuspendido.
b. Estender em lâmina confeccionando esfregaços convencionais, interrompidos ou apenas depositando a gota até secar por completo (dependerá dos direcionamentos diagnósticos).
c. Em seguida, corar com panótico rápido, Gram ou outra coloração que julgar necessária.

2. Caso a amostra esteja refrigerada aquece-la antes de iniciar o procedimento.

CONCENTRAÇÃO DE FIBRINOGÊNIO

MÉTODO: Indireto através de precipitação por calor.
AMOSTRA: Plasma.
MATERIAIS E EQUIPAMENTOS:

- ✓ Refratômetro.
- ✓ Microcentrífuga.
- ✓ Tubos para microhematócrito.
- ✓ Banho-maria.
- ✓ Massa vedante/bico de Bunsen.
- ✓ Água destilada.
- ✓ Papel absorvente liso.

TÉCNICA:

1. Repita utilizando dois capilares a sequência técnica descrita para a obtenção do hematócrito.
2. Em seguida, retire os tubos da microcentrífuga. Um será quebrado, sendo realizado o mesmo procedimento descrito acima para concentração de proteínas plasmáticas. O valor é obtido resultando na PPT1.
3. O segundo tubo é colocado em um banho-maria previamente ajustado na temperatura de 56ºC durante 3 minutos.
4. Em seguida, o segundo tubo novamente é colocado para microcentrifugação durante 2 min.
5. Posteriormente, esse é quebrado obtendo-se o plasma, na qual a concentração de proteínas será obtida conforme os mesmos procedimentos já abordados. O referido valor será registrado (PPT2).
6. A diferença entre a PPT1 e a PPT2 corresponderá a concentração de fibrinogênio. O valor será obtido em g/dL e deverá ser transformado para mg/dL (multiplica-se por 1000).

Obs.: 1. O segundo valor não poderá ser maior que o primeiro.

3. Caso os valores sejam iguais, a concentração de fibrinogênio será < 200 mg/dL.

LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO/LÍQUOR

MÉTODO: Exames físico, químico, celularidade total e citológico.
AMOSTRA: Líquor colhido em três tubos estéreis de forma sequencial. Quantidade mínima de 0,5 mL em cada tubo.
MATERIAIS E EQUIPAMENTOS:

- ✓ Refratômetro.
- ✓ Citocentrífuga/macrocentrífuga.
- ✓ Contador hematológico automatizado/hemocitômetro de Neubauer.
- ✓ Aparelho de espectrofotometria por absorbância.
- ✓ Tiras químicas comerciais para dosagem de analitos.

- ✓ Microtubos (para macrocentrifugação).
- ✓ Pipeta automática.
- ✓ Lâminas para microscopia
- ✓ Lâmina extensora (a mesma utilizada em esfregaço sanguíneo).
- ✓ Papel absorvente.

TÉCNICA:

1. Realizar o exame físico:
    a. Cor.
    b. Aspecto: límpido, turvo (e suas graduações), sanguinolento.
    c. Coagulabilidade: presente ou ausente.
    d. Densidade: calibrar o refratômetro conforme técnica padrão e na coluna da direita ler a densidade. Cada traço de marcação equivale a duas unidades.
2. Realizar o exame químico:
    a. Utilizar as tiras reagentes comerciais, considerando as concentrações quantitativas dos seguintes analitos: sangue oculto e glicose.
    b. O pH deverá ser lido em fita própria para essa mensuração.
    c. As proteínas deverão ser lidas primariamente por refratometria segundo técnica padrão já descrita.
    d. Análises bioquímicas adicionais podem ser realizadas segundo técnicas padrões de espectrofotometria por absorbância.
3. A contagem total de células nucleadas e hemácias da amostra deverá ser obtida segundo as técnicas:
    a. Automatizada por contador hematológico (entretanto, essa será bastante ocasional limitando-se a celularidades extremas. Caso contrário, a técnica não possui sensibilidade quantitativa).
    b. Manual por câmara de Neubauer: De modo geral, uma gota do líquor não diluído deverá ser depositada em câmara de Neubauer. As células dispostas nos 9 quadrados grandes deverão ser contadas e diferenciadas entre células nucleadas e hemácias. O valor final de cada tipo deverá ser multiplicado por 1,1.
4. Citologia: as análises citomorfológicas e diferenciais deverão ser realizadas utilizando-se citocentrífuga ou esfregaços/gotas de material concentrado por macrocentrifugação. As colorações serão realizadas conforme metodologias padrões e de acordo com a necessidade diagnóstica.

LÍQUIDO SINOVIAL

MÉTODO: Exames físico, químico, celularidade total e citológico.
AMOSTRA: Líquidos colhidos em dois tubos: um com EDTA e outro sem anticoagulante. Quantidade mínima de 0,5 mL em cada tubo.

MATERIAIS E EQUIPAMENTOS:

- ✓ Refratômetro.
- ✓ Citocentrífuga/macrocentrífuga.
- ✓ Hemocitômetro de Neubauer.
- ✓ Aparelho de espectrofotometria por absorbância.
- ✓ Tiras químicas comerciais para dosagem de analitos.
- ✓ Ácido acético glacial.
- ✓ Água destilada.
- ✓ Microtubos/tubos cônicos (para macrocentrifugação).
- ✓ Pipeta automática.
- ✓ Lâminas para microscopia.
- ✓ Lâmina extensora para esfregaço sanguíneo.
- ✓ Papel absorvente liso.

TÉCNICA:

1. Realizar o exame físico:

   a. Cor.
   b. Aspecto: límpido, turvo (e suas graduações).
   c. Densidade: calibrar o refratômetro conforme técnica padrão e na coluna da direita ler a densidade. Cada traço de marcação equivale a duas unidades.
2. Realizar o exame químico:
   a. Utilizar as tiras reagentes comerciais, considerando as concentrações quantitativas dos seguintes analitos: sangue oculto e glicose.
   b. O pH deverá ser lido em fita própria para essa mensuração.
   c. As proteínas deverão ser lidas primariamente por refratometria segundo técnica padrão já descrita.
   d. Análises bioquímicas adicionais podem ser realizadas segundo técnicas padrões de espectrofotometria por absorbância.
3. Teste da qualidade de precipitação da mucina:
   a. 0,1 mL de ácido acético glacial.
   b. 4,0 mL de água destilada.
   c. Misturar em um tubo de ensaio obtendo uma solução aquosa de 2,5% com pH 2,8 a 25ºC.
   d. Adicionar vagarosamente 1,0 mL de amostra do líquido sinovial, tomando cuidado para que a amostra não entre em contato com a parede do tubo de ensaio.
   e. Rotacionar delicadamente (movimentos espirais) o tubo.
   f. Deixar à temperatura ambiente por 1 hora.
   g. Classificação:
      i. Normal: coágulo firme, compacto e viscoso em uma solução límpida e clara.
      ii. Regular: massa delicada, macia, em uma solução discretamente turva.
      iii. Ruim: massa pequena e friável em uma solução turva, amarelo-claro ou âmbar-claro.
      iv. Péssimo: poucos flocos ou partículas em uma solução muito turva.
4. A contagem total de células nucleadas e hemácias da amostra deverá ser obtida segundo técnica manual por câmara de Neubauer:
   a. Pode-se realizar diluição padrão para contagem de hemácias e células nucleadas.
5. Citologia: as análises citomorfológicas e diferenciais deverão ser realizadas utilizando-se citocentrífuga ou esfregaços/gotas de material concentrado por macrocentrifugação. As colorações serão realizadas conforme metodologias padrões e de acordo com a necessidade diagnóstica.

EFUSÕES CAVITÁRIAS

MÉTODO: Exames físico, químico, celularidade total e citológico.
AMOSTRA: Líquidos colhidos em dois tubos: um com EDTA e outro sem anticoagulante. Quantidade mínima de 1,0 mL em cada tubo.

MATERIAIS E EQUIPAMENTOS:

- ✓ Refratômetro.
- ✓ Citocentrífuga/macrocentrífuga.
- ✓ Contador hematológico automatizado/hemocitômetro de Neubauer.
- ✓ Aparelho de espectrofotometria por absorbância.
- ✓ Ácido acético a 10%.
- ✓ Água destilada.
- ✓ Tiras químicas comerciais para dosagem de analitos.
- ✓ Microtubos/tubos cônicos (para macrocentrifugação).
- ✓ Pipeta automática.
- ✓ Lâminas para microscopia
- ✓ Lâmina extensora para esfregaço sanguíneo.
- ✓ Papel absorvente.

TÉCNICA:

1. Realizar o exame físico:
    a. Cor.
    b. Aspecto: límpido, turvo (e suas graduações).
    c. Coagulabilidade: presente ou ausente.
    d. Densidade: calibrar o refratômetro conforme técnica padrão e na coluna da direita ler a densidade. Cada traço de marcação equivale a duas unidades.
2. Realizar o exame químico:
    a. Utilizar as tiras reagentes comerciais, considerando as concentrações quantitativas dos seguintes analitos: sangue oculto e glicose.
    b. As proteínas deverão ser lidas primariamente por refratometria segundo técnica padrão já descrita.
    c. Análises bioquímicas adicionais podem ser realizadas segundo técnicas padrões de espectrofotometria por absorbância.
3. Prova de Rivalta: 50 mL de água destilada + 0,4 mL de ácido acético a 10%. Mistura-se bem. Em seguida, adiciona-se uma gota do líquido na solução e determina-se o resultado:
    a. Positivo: nuvem esbranquiçada.
    b. Negativo: nuvem muito discreta ou não se forma.
4. A contagem total de células nucleadas e hemácias da amostra deverá ser obtida segundo as seguintes técnicas:
    a. Automatizada por contador hematológico.
    b. Manual por câmara de Neubauer:
        i. Pouca celularidade: procede-se como na contagem de líquor.
        ii. Alta celularidade: procede-se como para contagem de hemácias e leucócitos, utilizando o método padrão e as soluções de diluição/coloração referidas.
5. Citologia: as análises citomorfológicas e diferenciais deverão ser realizadas utilizando-se citocentrífuga ou esfregaços/gotas de material concentrado por macrocentrifugação. As colorações serão realizadas conforme metodologias padrões e de acordo com a necessidade diagnóstica.

LÍQUIDO RUMINAL

MÉTODO: Exames físico, químico e avaliação microscópica de infusórios.
AMOSTRA: Líquido ruminal. Quantidade mínima representativa de 500 mL.
MATERIAIS E EQUIPAMENTOS:

- ✓ Béquer (≥ 500 mL).
- ✓ Provetas de 100 e 20 mL.
- ✓ Azul de metileno 0,03%.
- ✓ Lâminas para microscopia.
- ✓ Lamínulas.
- ✓ Pipeta Pasteur.
- ✓ PHmetro/tiras reagentes para pH.
- ✓ Dosador de eletrólitos.
- ✓ Kit reagente para cloreto.
- ✓ Peneira.
- ✓ Gazes.
- ✓ Pipeta automática/pipeta volumétrica de vidro.
- ✓ Cronômetro.

TÉCNICA:

1. Realizar o exame físico:
    a. Cor: verde, verde oliva, verde acastanhado, acinzentado, amarelado a acinzentado, preto-esverdeado.
    b. Consistência: aquosa, viscosa (incluindo graduações).

c. Odor: aromático, ácido, pútrido ou repugnante, amoniacal, sem odor.
d. Tempo de sedimentação e flotação (TAS):
   i. Em uma proveta de 100 mL adicionar o conteúdo ruminal recém-colhido após a filtração com gaze e cronometrar o tempo resultante desde o enchimento da proveta até a completa sedimentação e flutuação do conteúdo ruminal.

Tempo normal de 4 – 8 minutos.

2. Realizar o exame químico:
   a. O pH deverá ser lido em PHmetro/tira reagente para pH.

Valor normal de 6,2 – 7,2 para adultos e bezerros 6,0 – 7,0

   b. Potencial redox (PRAM):
      i. Em um tubo de ensaio, pipetar 20 mL do líquido ruminal filtrado com uma gaze. Acrescentar 1 mL de azul de metileno a 0,03%. Medir o tempo gasto para o desaparecimento da coloração.

Tempo normal de 3 – 6 minutos.

   c. Concentração de cloretos: realizada segundo metodologias bioquímicas de espectrofotometria por absorbância ou do eletrodo seletivo.
3. Exame microscópico:
   a. Em uma lâmina colocar uma gota de líquido ruminal recém-colhido e homogeneizar, observando ao microscópio através da objetiva de 10x:
      i. Viabilidade: estimativa percentual de infusórios vivos e mortos, contabilizados em diversos campos da lâmina, contando-se pelo menos 100 infusórios e diferenciando-os entre os dois grupos.
      ii. Densidade: estimada em ausente (-) até abundante (+ + + +)
      iii. Motilidade: ausente (-) até acentuada (+ + + +).
      iv. Distribuição: pequenos, médios e grandes infusórios, utilizando termos qualitativos (ausentes a abundantes) ou o sistema de cruzes para quantificá-los em cada grupo.
   b. Contagem de protozoários: pipetar 1 mL de líquido ruminal filtrado com gaze; acrescentar 9 mL de solução de formaldeído a 1% e 3 gotas de azul de metileno; preencher a câmera de Fuchs-Resental e contar a microscópio todas as áreas reticuladas.
      i. Cálculo: número de protozoários contados x fator 3,2 = número de protozoários por mm^3 (multiplica-se por 1000 para obter o valor em mL).

4. Dosagem de Cloretos.

- Centrifugar 2 mL de líquido ruminal por 5 -10 minutos em 3.000 rpm
- Retirar o sobrenadante e colocar em uma cubeta
- Colocar o líquido no aparelho dosador de eletrólitos
- Imprimir o resultado e anotar na ficha do animal.

CONFERÊNCIA E LIBRAÇÃO DOS EXAMES

- ✓ **Passar todos os resultados para as fichas de resultados**
- ✓ **Verificar todos os resultados para ver se não há erros de digitação**
- ✓ **Assinar todos os exames**
- ✓ **Encaminhar a recepção para colocar nas fichas dos animais**

NORMAS DE HIGIENIZAÇÃO DOS AMBIENTES E EQUIPAMENTOS DOS LABORATÓRIOS

1**- OBJETIVO:**

- Objetivo desse Procedimento Operacional Padrão - POP é apresentar aos colaboradores dos Laboratórios Acadêmicos dessa IES o conhecimento das regras gerais para limpeza dos laboratórios que norteiam as Boas Práticas nos Laboratórios (BPLs) visando minimizar os riscos, maximizar a eficiência no uso dos laboratórios.

2 – **HIGIENIZAÇÃO DE SUPERFÍCIES E EQUIPAMENTOS:**

Cada laboratório, de acordo com a classe de risco que apresenta, deve ter sua rotina própria de higienização. Entretanto, de modo geral, devem ser observados procedimentos e periodicidade das rotinas de higienização.

- Após cada aula prática, devem ser retirados os equipamentos/materiais utilizados;
- As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas, pelo menos, uma vez ao dia e sempre depois de qualquer derramamento de material;
- Todos os materiais/equipamentos devem ser adequadamente limpos após a utilização, de acordo com as respectivas rotinas;
- O recolhimento do material utilizado em procedimento práticos, sua limpeza e guarda, é da responsabilidade do corpo técnico do laboratório;
- A limpeza da área geral do laboratório deve ser realizada por pessoal treinado e informado sobre as normas de biossegurança, usando EPI adequado;
- Os resíduos sólidos ou líquidos devem ser inativados ou descontaminados antes de serem descartados corretamente;
- Resíduos biológicos ou com possibilidade de contaminação deve ser descartado em local apropriado;
- Material pérfuro-cortante deve ser descartado em recipientes apropriados e resistentes a perfuração.

Ambientes / Equipamento	Periodicidade	Material utilizado para limpeza	EPI's	Procedimento	Responsável
Freezers e Geladeiras	Mensalmente	Água, sabão e álcool 70%.	Jaleco, gorro, máscara, sapatos fechados e luvas	Transferir o conteúdo para outro refrigerador; lavar com água e sabão; enxaguar e secar com pano limpo ou papel absorvente antes de ligar e recolocar o material. Após a limpeza, descontaminar com álcool 70%, esfregando as superfícies internas e externas até evaporação	Técnicos do Setor
Pias	Diariamente	Água, sabão e álcool 70%	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Limpeza com água, detergente ou sabão neutro e esponja. Quando houver manchas, tirar com esponja de aço e saponáceo Após a limpeza, fazer a descontaminação com álcool 70% e pano seco e limpo. Esfregando até evaporar por 2 vezes	Técnicos do setor
Bancadas	Diariamente: Antes do início das atividades de cada turno. Após contaminação com respingos ou derramamentos de material biológico	Água, sabão e álcool 70%. Água, sabão, álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1%;		Descontaminação com álcool 70% e pano seco Cobrir a área com papel absorvente ou gaze; Colocar cuidadosamente hipoclorito de sódio a 1%; Deixar agir por 20 minutos; Desprezar os resíduos, no lixo contaminado; Limpar a área com água, sabão e esponja; Secar com pano e aplicar álcool 70% até evaporação.	Técnicos do Setor
Banhos Maria	Quinzenal	Água, sabão e álcool 70%	Jaleco, gorro, mascara, sapatos fechados e luvas.	Passar a esponja com água e detergente ou sabão neutro nas superfícies; Retirar o excesso do detergente com um pano umedecedor em água; Passar álcool 70% em todas as superfícies e deixar secar por evaporação.	Técnicos do Setor
Centrifuga	Diariamente	Água,	Jaleco,	Retirar as caçapas,	Técnicos do

		sabão e álcool 70%	gorro, mascara, sapatos fechados e luvas.	suportes e rotor; Lavá-los com água, sabão ou detergente neutro e esponja sob água corrente; Limpar o interior da centrífuga com pano umedecido em água e detergente; Passar álcool 70% , pano seco e limpo até evaporação; Esguichar álcool 70% nas caçapas, utilizando uma pinceta; e deixá-las secarem invertidas.	Setor
Microscópio	Semanalmente	Água, álcool 70% e álcool isopropilico para as objetivas	Jaleco, gorro, mascara, sapatos fechados e luvas.	Aplicar uma compressa umedecida em água e limpar as superfícies do microscópio. Passa álcool 70% em todas as superfícies do microscópio e deixar secar por evaporação. Limpar as lentes com álcool isopropilico.	Técnicos do Setor

3- **PROCEDIMENTOS USUAIS DE DESINFECÇÃO:**

Para desinfecção de ambientes, materiais e pele/mãos, antes ou após as aulas práticas ou procedimentos experimentais, deve-se utilizar soluções adequadas, de acordo com o tipo de procedimento realizado, sendo as mais comuns:

Álcool a 70% (etanol ou isopropílico):

- Utilização: descontaminação da pele, equipamentos e bancadas;
- Procedimento: deve ser utilizado após a superfície ser lavada com água e sabão e retirado o excesso de água; deve-se passar um pano limpo ou papel absorvente embebido com o álcool a70% na superfície a ser descontaminada;
- Tempo necessário para descontaminação: mínimo de 15 minutos;
- Preparação da solução: 73,3 mL de etanol a 95º + 100 mL de água destilada.

Hipoclorito de sódio a 1%:

- Utilização: descontaminação de pisos, vidrarias, jalecos e inativação química de material biológico;
- Procedimento: deve ser utilizado após a superfície ou material ser lavado com água e sabão e retirado o excesso de água; deve-se passar um pano limpo ou papel absorvente embebido com a solução na superfície a ser descontaminada, ou mergulhar o material (vidrarias, jalecos, etc.) para que todas as partes fiquem em contato com a solução;
- Tempo de atuação: mínimo de 30 minutos;

Preparação da solução: a água sanitária comercialmente vendida apresenta-se numa concentração de 2 a 2,5%; para obter-se a concentração aproximada a 1%, deve-se diluir em água em partes iguais.

ELABORADO POR:	**APROVADO POR:**
Profª. Welitânia Inácia Silva	_____ FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP):
CLÍNICA MÉDICA DE PEQUENOS ANIMAIS

SETOR: Clínica Médica de Pequenos Animais

IFPB CAMPUS SOUSA UNIDADE SÃO GONÇALO HV-ASA	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	Estabelecido em: 02/06/2023 Revisado em: JUN/2025 VERSÃO: Nº 01

ATIVIDADE: Diretrizes para procedimentos para atendimento setor de clínica de pequenos animais

OBJETIVOS:
Realizar o atendimento de consultas de rotina e emergência de cães e gatos e retornos, através dos profissionais que atendem no Hospital Veterinário Adílio Santos Azevedo, padronizando e otimizando o procedimento em questão.

1. FUNÇÃO

Recepcionista

- Receber o responsável pelo paciente que se apresente à recepção ou atender o telefonema de responsáveis por seus animais.
- Verificar a disponibilidade de vagas por horário de atendimento, informando sobre a necessidade de espera ou atendimento imediato.
- Verificar a existência de cadastro de prontuários feitos anteriormente, evitando a duplicidade de informações.
- Preencher todos os campos do cadastro geral com informações completas e sem abreviaturas.
- Organizar os prontuários por ordem de chegada dos pacientes ou por ordem de prioridade, caso necessário

Técnicos Veterinários e Especializandos

- Realizar a consulta e exames clínicos.
- Orientar o paciente após a consulta sobre a realização de exames complementares e
- marcação de retorno, caso necessário.
- Organizar o consultório após o atendimento clínico.

Docentes

- Supervisionar e orientar o cumprimento da rotina.

Estagiários

- Acompanhar os atendimentos clínicos realizados pelos veterinários, especializandos e docentes.
- Auxiliar na contenção e procedimentos de coleta de amostras biológicas.
- Repor materiais descartáveis no armário dos ambulatórios a cada início de turno de atendimento ou sempre que possível.

Técnico Auxiliar limpeza

- Manter a limpeza e arrumação dos ambulatórios consultório utilizando álcool 70%, água sanitária e papel toalha.

- Repor soluções, identificar e trocar a cada 07 dias e datar os frascos, conforme preconiza a ANVISA.
- Proceder à higiene dos equipamentos, materiais de curativos e demais necessários.

2. PADRONIZAÇÃO DOS CUIDADOS PESSOAIS DA EQUIPE DE ATENDIMENTO DO HOSPITAL VETERINÁRIO ADÍLIO SANTOS AZEVEDO

- Utilizar blusa ou camisa e calças compridas brancas/ pijama.
- Utilizar sapatos fechados/ tênis.
- Utilizar jaleco ou avental.
- Estar com os cabelos presos, unhas curtas e limpas, barba feita ou bem aparada.

3. ATENDIMENTO NOS AMBULATÓRIOS

- No recebimento do paciente, preencher a ficha clínica com todos os dados referente a queixa principal, histórico fornecido pelos tutores.
- Observar os pacientes e realizar exame físico, avaliando seus aspectos gerais e específicos de acordo com a queixa principal.
- Preencher adequadamente todos os parâmetros existentes no prontuário.
- Coletar amostras biológicas e/ou solicitar exames complementares laboratoriais ou de imagem para auxiliar no diagnóstico.
- A colheita de amostras de material biológico para exames laboratoriais poderá ser realizada pelos discentes, estagiários e monitores, desde que estejam sob a supervisão de docente com formação médica veterinária, especializandos ou de médico veterinário
- Estabelecer protocolo terapêutico clínico ou cirúrgico de acordo com o diagnóstico
- Passar informações aos tutores referentes ao diagnóstico e protocolo terapêutico, bem como explicar de forma clara e objetiva a receita.

4. SALA DE ATENDIMENTO DE URGÊNCIA E EMERGÊNCIA

- Receber o paciente emergencial e imediatamente chamar a Equipe Veterinária Responsável
- Encaminhar o paciente para a sala de emergência
- Seguir os passos do protocolo ABCDE:
  A – AIRWAY (Avaliação das vias aéreas)
  - Observar a presença de dispneia, fratura de vias aéreas, ferida penetrante, enfisema subcutâneo.
  - Desobstruir, se houver corpo estranho, coágulos ou regurgitação.
  - Oxigenar por máscara, tenda ou cateter nasal.
  - Em caso de apneia proceder à intubação orotraqueal, seguida de ventilação com ambu ou respirador
  - Proceder à traqueostomia de emergência.
  B- BREATHING (Respiração)
  - Observar ventilação, padrão respiratório e integridade costal e coloração de mucosas.
  - Administrar oxigênio a 100%.
  C – CIRCULATION (Circulação)
  - Avaliar sistema cardiovascular, volemia, perfusão tecidual, presença de hemorragias, temperatura de extremidades.
  - Coletar amostra de sangue para realização de hemograma, exames bioquímicos.

- Monitorar pressão arterial, débito urinário e condutibilidade elétrica cardíaca.
- Repor volemia, associando colóides e cristaloides ou realizar transfusão sanguínea, se necessário.

D – DISABILITY (Avaliação neurológica)

- Avaliar postura motora, estado de consciência, presença de lesões neurológicas e responsibilidade à dor
- Realizar avaliação utilizando a escala de coma de Glasglow.

E – EXPOSURE (Exposição)

- Avaliar superfície corporal, controlar temperatura, verificar a presença de lacerações, contusões, infecções, eviscerações, fraturas e edema.
- Em caso de evisceração, proteger as vísceras com compressa morna e úmida e somente após a estabilização da condição sistêmica e sob anestesia, tentar redução.

5. SALA DE FLUIDOTERAPIA E INTERNAMENTO

- Os tutores devem assinar o “Termo de Internação” no ato de internação do paciente.
- Realizar acesso venoso do paciente antes da administração de medicações pela via intravenosa, verificando se há presença de flebite, sujidades ou ar no equipo.
- Manter fluidoterapia para manutenção e administrar medicações conforme prescrição médica.
- Descrever na ficha de internação o protocolo estabelecido citando o tipo de fluido, via de administração, cateter utilizado, taxa de infusão, taxa de gotejamento.
- Durante a reconstituição, diluição e administração do medicamento, observar qualquer mudança de coloração e a formação de precipitados e cristais. Caso ocorra um desses eventos, interromper o processo para troca da medicação.
- Verificar na bula da medicação o tipo de diluente recomendado, via de administração, efeitos adversos e interações medicamentosas prejudiciais.
- Monitorar o paciente avaliando seus parâmetros fisiológicos afim de evitar complicações referentes a administração de fluidos intravenosos ou reações adversas a medicações prescritas.

6. SALA DE ATENDIMENTO DE DOENÇAS INFECTOCONTAGIOSA

- Atender somente animais com suspeita de clínica de enfermidades infectocontagiosas.
- Para cães, recomenda-se realizar a triagem fora do consultório ambulatorial, em ambiente aberto, garantindo a proteção do veterinário, do tutor e do animal, não sendo permitido atendimento com o paciente dentro do carro do proprietário.
- As mãos devem ser higienizadas antes de cada atendimento, em seguida colocar as luvas de procedimento que devem ser trocadas entre os atendimentos.
- Utilizar vestimentas adequadas como jaleco de manga comprida, gorro, sapato fechado, máscara e óculos de proteção.
- Os EPI’S descartáveis utilizados durante o atendimento devem ser descartados em lixo destinado a descarte de material contaminado.
- É vetado aos técnicos veterinários, docentes, especializandos, estagiários ou discentes que adentrarem na sala de atendimento de doenças infectocontagiosas circularem as demais dependências do Hospital veterinários sem antes trocar as vestimentas afim de evitar disseminação de patógenos.

7. HIGIENIZAÇÃO DE SUPERFÍCIES E EQUIPAMENTOS

- Após o atendimento as mesas devem ser higienizadas com álcool 70% e papel toalha.
- Higienizar termômetro, estetoscópio e demais equipamentos utilizados no atendimento clínico.
- Realizar descarte de EPI'S como luvas, gorros, máscara em lixo próprio destinado para isso.
- Descartar agulhas, seringas, ampolas de medicação em lixo perfuro-cortante.

ELABORADO POR:	**APROVADO POR:**
Profª. Katarine de Souza Rocha	_____ FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP):
CLÍNICA CIRÚRGICA DE PEQUENOS ANIMAIS

SETOR: **CLÍNICA CIRÚRGICA DE PEQUENOS ANIMAIS**

IFPB CAMPUS SOUSA UNIDADE SÃO GONÇALO HV-ASA	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	Estabelecido em: 02/06/2023 Revisado em: JUN/2025 VERSÃO: Nº 01

ATIVIDADE: Procedimentos para realização de cirurgia de pequenos animais

OBJETIVOS:

- Realizar procedimentos cirúrgicos eletivos, procedimentos cirúrgicos curativos e procedimentos cirúrgicos diagnósticos em animais de companhia durante a rotina hospitalar;
- Apoiar as aulas de Técnica Cirúrgica, Patologia Cirúrgica e de Clínica Cirurgia de Pequenos Animais do curso de Medicina Veterinária;
- Apoiar o treinamento de médicos veterinário por meio do Curso de Especialização em Medicina Veterinária nas áreas de concentração de Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais e Anestesiologia Veterinária.

1. ATENDIMENTO AMBULATORIAL CIRÚRGICO

- Realizar avaliação clínico-cirúrgica do animal por médico veterinário cirurgião ou especializando em cirurgia para determinar a necessidade de intervenção cirúrgica.
- Coletar amostras biológicas para realização de exames como hemograma, função renal, função hepática, proteínas totais, urinálise ou demais exames necessários.
- Solicitar exame citopatológico em casos de nódulos para determinar a abordagem cirúrgica a ser realizada, auxiliando o cirurgião na tomada de decisão referente a margem cirúrgica a ser adotada.
- Solicitar realização de exames por imagem como ultrassonografia e radiografia para auxiliar no diagnóstico e planejamento cirúrgico.
- Orientar os tutores sobre medidas de higiene prévia a realização do procedimento cirúrgico como banhos e tosa quando necessário, bem como jejum hídrico e alimentar.
- Dar esclarecimentos aos tutores sobre os possíveis riscos do procedimento anestésico e cirúrgico.
- Dar esclarecimentos aos tutores sobre cuidados pós-operatórios da ferida cirúrgica bem como a limpeza e retirada de pontos e sobre o repouso pós-operatório.

2. RECEPÇÃO DO ANIMAL

- Verificar o prontuário do paciente, os exames complementares realizados e o jejum pré-operatório.
- Realizar pesagem do animal.
- Preencher e solicitar a assinatura do “Termo de autorização para procedimento cirúrgico e anestésico” após prévia explicação sobre eventuais os riscos dos procedimentos.
- Encaminhar o paciente para a Sala de Medicação Pré-anestésica.

3. SALA DE PREPARO

- O profissional responsável pela anestesia, ao receber o paciente na Sala de Preparo deverá aferir os parâmetros vitais como Frequência Cardíaca (FC), Frequência Respiratória (FR), Temperatura Corpórea (TC) e grau de hidratação e registrá-lo em ficha de procedimento anestésico.
- Realizar a tricotomia, canular o animal para acesso venoso e proceder à Medicação Pré-Anestésica.
- Transportar o paciente para a sala de cirurgia em maca, sob a responsabilidade dos profissionais ali presentes.
- Todos os profissionais que estiverem na Sala de Preparo deverão se encaminhar ao vestiário para paramentação e assepsia na externas ao centro cirúrgico, evitando assim risco de contaminação cruzada.

4. RECEPÇÃO DO ANIMAL NO CENTRO CIRÚRGICO

- Realizar os procedimentos relativos à indução e manutenção anestésica.
- Posicionar o paciente sobre a mesa cirúrgica, conforme descrição do cirurgião.
- Realizar antissepsia prévia com clorexidine degermante 2% do local a ser abordado cirurgicamente.

5. PREPARO DA EQUIPE CIRURGICA

No vestiário

- Guardar os objetos pessoais em local adequado.
- Realizar a troca de roupas e calçar o calçado de uso exclusivo no HV-ASA.
- Colocar a máscara de forma a cobrir a região da boca e nariz por completo.
- Colocar o gorro cirúrgico descartável cobrindo totalmente os cabelos.
- Colocar propé descartável cobrindo totalmente os sapatos.

Área de Escovação

- Lavar bem as mãos com solução a base de clorexidine degermante 2% e água abundante. Realizar a escovação de maneira eficiente, escovando primeiramente as pontas dos dedos, dorso e palma da mão e seguindo em direção ao cotovelo sem voltar para as mãos, mantê-las elevadas a para que a água não escorra da área mais contaminada (braços) para a menos contaminada (mãos).
- Secar as mãos e os braços com toalha esterilizada, seguindo o mesmo sentindo de escovação: mãos, antebraços e o cotovelo.
- Vestir o avental cirúrgico, tocando somente a face interna do mesmo.
- Calçar as luvas cirúrgicas estéreis.

Centro cirúrgico

- Está vestindo trajes adequados como pijama cirúrgico, sapato fechado (de material emborrachado), touca ou gorro, propé e máscara
- Evitar movimentação excessiva para diminuir a disseminação bacteriana nas correntes de ar formadas

pela intensa movimentação.

- Conversar apenas o necessário para evitar a dispersão de gotículas de saliva, que podem carrear microrganismo.
- Utilizar apenas materiais que estejam esterilizados.
- No final de cada procedimento cirúrgico, realizar o descarte adequado dos materiais perfurocortantes, bem como matérias contaminados como gazes, compressas, luvas e demais EPI'S descartáveis.
- Armazenar em recipiente adequado amostras coletas durante o procedimento cirúrgico e que precisam ser encaminhadas ao laboratório.
- Realizar contagem do instrumental cirúrgico utilizado, posteriormente acondicionar em caixa cirúrgica e encaminhado para o setor de lavagem e esterilização de material.

Sala de recuperação

- Conduzir os animais que passaram por procedimento cirúrgico para sala de recuperação anestésica.
- Acompanhar o retorno anestésico do animal avaliando seus parâmetros fisiológicos.
- Após retorno anestésico, entregar o animal ao seu tutor, explicando os cuidados pós-operatórios bem como orientando sobre o uso de medicações prescritas a partir da receita.
- Agendar retorno para retirada dos pontos cirúrgicos e avaliação do animal.

6. LIMPEZA DO CENTRO CIRÚRGICO

- Limpar todo início do dia com um pano e solução desinfetante, higienizando as superfícies horizontais, lâmpadas, equipamentos e móveis do bloco cirúrgico.
- Entre cada procedimento cirúrgico, esvaziar as lixeiras e limpar as bancadas, mesas e macas.
- Esvaziar as lixeiras e remover os sacos de lixo em toda limpeza terminal.
- Descartar objetos perfurocortantes.

7. GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS:

- Coleta dos resíduos dos grupos A, B e E realizada por empresa contratada para tal capacidade;
- Lixo comum coletado pelo sistema de coleta municipal.

NORMAS DE HIGIENIZAÇÃO DO BLOCO CIRÚRGICO E EQUIPAMENTOS

1- OBJETIVO:

- Orientar e padronizar a limpeza dos equipamentos. Com finalidade de evitar infecção cruzada, garantir maior proteção da equipe e evitar disseminação de contaminantes;
- Maximizar a eficiência no uso dos equipamentos.

2 – HIGIENIZAÇÃO DE SUPERFÍCIES E EQUIPAMENTOS:

- Após cada uso, deve ser retirados os equipamentos/materiais utilizados, levados para sala de equipamentos, e os materiais que necessitem lavagem, esta será realizada no expurgo, com água, sabão, quando necessário molho com hipoclorito de sódio ou desinfetante/antisséptico adequado;
- Todos os materiais/equipamentos devem ser adequadamente limpos, com álcool 70%, após a utilização, de acordo com as respectivas rotinas;
- O recolhimento do material utilizado no procedimento, sua limpeza e guarda, é da responsabilidade do corpo técnico do setor;
- A limpeza da área geral do ambiente deve ser realizada por pessoal treinado e informado sobre as normas de biossegurança, usando EPI adequado;

- Os resíduos sólidos ou líquidos devem ser inativados ou descontaminados antes de serem descartados corretamente;
- Resíduos biológicos ou com possibilidade de contaminação deve ser descartado em local apropriado;
- Material pérfurocortante deve ser descartado em recipientes apropriados e resistentes a perfuração.
- Os resíduos sólidos ou líquidos devem ser inativados ou descontaminados antes de serem descartados corretamente;

3- PROCEDIMENTOS USUAIS DE DESINFECÇÃO:

Para desinfecção de ambientes, materiais e pele/mãos, antes ou após as anestesias, deve-se utilizar soluções adequadas, de acordo com o tipo de procedimento realizado, sendo as mais comuns:

Álcool a 70% (etanol ou isopropílico):

- Utilização: descontaminação da pele, equipamentos e bancadas;
- Procedimento: deve ser utilizado após a superfície ser lavada com água e sabão e retirado o excesso de água; deve-se passar um pano limpo ou papel absorvente embebido com o álcool a70% na superfície a ser descontaminada;
- Tempo necessário para descontaminação: mínimo de 15 minutos;
- Preparação da solução: 73,3 mL de etanol a 95º + 100 mL de água destilada.

Hipoclorito de sódio a 1%:

- Utilização: descontaminação de pisos, vidrarias, jalecos e inativação química de material biológico;
- Procedimento: deve ser utilizado após a superfície ou material ser lavado com água e sabão e retirado o excesso de água; deve-se passar um pano limpo ou papel absorvente embebido com a solução na superfície a ser descontaminada, ou mergulhar o material (vidrarias, jalecos, etc.) para que todas as partes fiquem em contato com a solução;
- Tempo de atuação: mínimo de 30 minutos;

Preparação da solução: a água sanitária comercialmente vendida apresenta-se numa concentração de 2 a 2,5%; para obter-se a concentração aproximada a 1%, deve-se diluir em água em partes iguais.

ELABORADO POR:	APROVADO POR:
Professoras Ana Lucélia de Araújo, Fabrícia Geovânia Fernandes Filgueira e Katarine de Souza Rocha	_____ FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP):
ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA

SETOR: **ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA**

IFPB CAMPUS SOUSA UNIDADE SÃO GONÇALO HOSPITAL VETERINÁRIO ADÍLIO SANTOS DE AZEVEDO (HV-ASA)	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	Estabelecido em: 02/06/2023 Revisado em: JUN/2025 VERSÃO: Nº 01

ATIVIDADE: Procedimentos para realização de anestesia e/ou analgesia de animais domésticos.

OBJETIVOS:
Promover anestesia, analgesia, inconsciência, sedação ou tranquilização e miorrelaxamento nos animais domésticos, conforme necessidade;
Realizar atendimento de emergência em pacientes com quadro clínico de parada respiratória ou cadiorrespiratória.

1- **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA:**
O setor da Anestesiologia Veterinária funciona dentro de um hospital com atividades volantes, pois atende as demandas de todos os outros setores que necessitem da utilização de fármacos anestésicos ou da prestação do serviço de emergência. Por envolver pequenos e grandes animais a especialidade tem diversas particularidades e é extremamente complexa. As técnicas de anestésicas são comumente utilizadas com o objetivo promover anestesia, analgesia, sedação ou tranquilização e miorrelaxamento dos pacientes.
A sequência de etapas para a cirurgia segura inclui: "Prevenção de infecção no sítio cirúrgico; Anestesia segura; Equipes cirúrgicas eficientes; Mensuração da assistência segura". (OMS, 2010, p. 12-15)

2- **PROCEDIMENTOS DO ANESTESISTA**
- Realizar a troca de roupas e calçado comuns por pijama cirúrgico e jaleco manga longa limpos, calçar calçado (sapato emborrachado) previamente higienizado e de uso exclusivamente hospitalar;
- Higienizar as mãos com água e sabão ou com álcool 70%;
- Colocar máscara facial e gorro cirúrgico;
- Para acessar zonas limpas (centros cirúrgicos) uso obrigatório de propé;
- Organizar o “kit de fármacos”, na maleta da anestesiologia, que possivelmente serão utilizados na rotina anestesiológica;
- Realizar avaliação pré-anestésica do paciente (exame anestesiológico prévio, com uso de estetoscópio, termômetro, lanterna e trocar as luvas a cada paciente atendido), determinar protocolo anestésico/analgésico;
- Verificar o prontuário do paciente, os exames complementares realizados e o jejum pré-operatório;
- Aplicar o termo de consentimento anestésico, após prévia explicação sobre eventuais os riscos dos procedimentos;
- Realizar pesagem do animal;
- Anotar na ficha de avaliação pré-anestésica nome do procedimento e todas as mensurações dos parâmetros vitais como Frequência Cardíaca (FC), Frequência Respiratória (FR), Temperatura Corpórea (TC) e grau de hidratação e registrá-los;
- Realizar a tricotomia, canular o animal para acesso venoso e proceder à Medicação Pré-Anestésica;
- Na sala de cirurgia, usar: pijama cirúrgico, calçado fechado (sapato emborrachado), gorro, máscara e propé;
- Obedecer criteriosamente aos intervalos de monitoração trans-cirúrgica do paciente (FC, FR, TC, PA, SpO2, ECG, Planos anestésicos)
- Realizar os procedimentos relativos à indução e manutenção anestésica.
- Ao final do procedimento, higienizar rigorosamente estetoscópios, sondas endotraqueais, oxímetros, termômetros retal e esofágico, e colchão térmico, todos os manguitos e instrumentos de contado direto ou indireto para com o paciente com álcool 70%. Lixo contaminado e comum descartados nas lixeiras correspondentes;
- Higienizar as mesas e equipamentos de uso comum utilizados com álcool a 70% após cada procedimento;
- Ao final do expediente, realizar trocas de roupas (vestes hospitalares deverão ser higienizadas no próprio ambiente) e descartar EPIs descartáveis.

3- **MATERIAIS:**
- Estetoscópio
- Termômetro
- Relógio analógico

- Lanterna clínica
- Aparelho de pressão
- Aparelho Multiparamétrico
- Aparelho de Anestesia Inalatória (Pneumático)
- Cilindro de Oxigênio
- Bomba de infusão
- Seringas, agulhas, cateteres
- Focinheira, mordaça

4- **PROCEDIMENTOS**

4.1 - Paciente:

- Conferir quem é o paciente, qual o procedimento a ser realizado e checar a ficha do mesmo com informações sobre anamnese, exame físico e complementares;
- Confirmar anuência do tutor/proprietário frente ao procedimento, informar os riscos da anestesia e se o tutor tem consciência do processo como um todo;

4.2 - Gases medicinais:

- Independente da modalidade anestésica, seja inalatória, dissociativa, TIVA ou locorregional, o fornecimento de O2 é fundamental para manter a PaO2 do animal em níveis aceitáveis, assim deve:
- Certificar de que há O2 suficiente para o procedimento anestésico, checar tudo: desde a saída do cilindro até a chegada do gás ao centro cirúrgico

4.3 - Aparelho de anestesia:

- Testar o aparelho de anestesia;
- Testar os fluxômetros;
- Verificar se há anestésico inalatório e cal sodada suficientes para o procedimento;
- Fazer um teste de vazamento no circuito.

4.4 - Medicamentos e Acesso venoso:

- Certificar todos os medicamentos para o procedimento, principalmente os de emergência, confome planejamento anestesiológico;
- Organizar os fármacos em carrinho ou maleta;
- Peparar o acesso venoso e material para intubação

4.5 - Equipamentos:

- Verificar as bombas de infusão e monitores;
- Bombas de infusão - checar a taxa e fluxo desejados e deixar tudo programado;
- Anestesia por TIVA: bombas de fluidoterapia e medicamentos devem ser distintas; preferencialmente uma bomba de infusão para cada medicamento;
- Aparelhos Uni ou Multiparamétricos - checar todos os sensores, funcionamento correto do aparelho, posicionar todos os sensores de modo que possamos conectá-los ao paciente no menor tempo possível;

4.6 - Parâmetros avaliados:

- Quantidade de parâmetros dependerá do estado fisiológico do animal e tipo de procedimento

.7 – Termino do procedimento:

- Cessar fornecimento de anestésico geral (injetável ou inalatório);
- Certificar que o fluxo de gases foi fechado;
- Extubar o animal apenas quando este apresentar reflexo laringotraqueal evidente;
- Retirar acesso venoso;
- Verificar terapia analgésica pós-operatória;
- Orientar o tutor sobre todos os cuidados para com o paciente pertinentes ao procedimento anestesiológico;
- Limpar todos os equipamentos (álcool 70% ou antisséptico com igual ou melhor espectro de ação);
- Guardar todos os cabos de monitoração;
- Deixar tudo arrumado e limpo;
- Descartar corretamente os resíduos produzidos com separação seletiva dentre materiais de risco de contaminação diferentes:

- Resíduos Potencialmente Infectantes - Grupo A (resíduos biológicos que podem disseminar vírus, bactérias ou outros microrganismos para o ambiente. Ex.: biológicos, como secreções e tecidos, vacinas e frasco-ampolas);
- Resíduos Químicos – Grupo B (medicamentos e outros materiais semelhantes);
- Resíduos Comuns – Grupo D (lixo semelhante ao gerado por residências ou empresas comuns. Ex.: papéis, plástico e outros);
- Resíduos Perfurocortantes – Grupo E (materiais com risco de gerar lesões nas pessoas que têm contato com eles. Ex.: agulha, lâmina de tricotomia ou bisturi, ampolas de vidro e outros).

- Retirar lixo do centro cirúrgico.

5- **EPIs**
Pijama cirúrgico, jaleco, calçado emborrachado, touca, máscara, propé e luva.

6- **GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS:**
- Coleta dos resíduos dos grupos A, B e E realizada por empresa contratada para tal capacidade;
- Lixo comum coletado pelo sistema de coleta municipal.

NORMAS DE HIGIENIZAÇÃO EQUIPAMENTOS

1- OBJETIVO:

- Orientar e padronizar a limpeza dos equipamentos. Com finalidade de evitar infecção cruzada, garantir maior proteção da equipe e evitar disseminação de contaminantes;
- Maximizar a eficiência no uso dos equipamentos.

2 – HIGIENIZAÇÃO DE SUPERFÍCIES E EQUIPAMENTOS:

- Após cada uso, deve ser retirados os equipamentos/materiais utilizados, levados para sala de equipamentos, e os materiais que necessitem lavagem, esta será realizada no expurgo, com água, sabão, quando necessário molho com hipoclorito de sódio ou desinfetante/antisséptico adequado;
- Todos os materiais/equipamentos devem ser adequadamente limpos, com álcool 70%, após a utilização, de acordo com as respectivas rotinas;
- O recolhimento do material utilizado no procedimento, sua limpeza e guarda, é da responsabilidade do corpo técnico do setor;
- A limpeza da área geral do ambiente deve ser realizada por pessoal treinado e informado sobre as normas de biossegurança, usando EPI adequado;
- Os resíduos sólidos ou líquidos devem ser inativados ou descontaminados antes de serem descartados corretamente;
- Resíduos biológicos ou com possibilidade de contaminação deve ser descartado em local apropriado;
- Material pérfuro-cortante deve ser descartado em recipientes apropriados e resistentes a perfuração.

3- PROCEDIMENTOS USUAIS DE DESINFECÇÃO:

Para desinfecção de ambientes, materiais e pele/mãos, antes ou após as anestesias, deve-se utilizar soluções adequadas, de acordo com o tipo de procedimento realizado, sendo as mais comuns:

Álcool a 70% (etanol ou isopropílico):

- Utilização: descontaminação da pele, equipamentos e bancadas;
- Procedimento: deve ser utilizado após a superfície ser lavada com água e sabão e retirado o excesso de água; deve-se passar um pano limpo ou papel absorvente embebido com o álcool a70% na superfície a ser descontaminada;
- Tempo necessário para descontaminação: mínimo de 15 minutos;
- **Preparação da solução: 73,3 mL de etanol a 95º + 100 mL de água destilada.**

Hipoclorito de sódio a 1%:

- Utilização: descontaminação de pisos, vidrarias, jalecos e inativação química de material biológico;
- Procedimento: deve ser utilizado após a superfície ou material ser lavado com água e sabão e retirado o excesso de água; deve-se passar um pano limpo ou papel absorvente embebido com a solução na superfície a ser descontaminada, ou mergulhar o material (vidrarias, jalecos, etc.) para que todas as partes fiquem em contato com a solução;
- Tempo de atuação: mínimo de 30 minutos;

Preparação da solução: a água sanitária comercialmente vendida apresenta-se numa concentração de 2 a 2,5%; para obter-se a concentração aproximada a 1%, deve-se diluir em água em partes iguais.

ELABORADO POR:	**APROVADO POR:**
Profª. Ana Lucélia de Araújo	_____ FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP):
CLÍNICA MÉDICA DE GRANDES ANIMAIS

SETOR: CLÍNICA MÉDICA DE GRANDES ANIMAIS

IFPB CAMPUS SOUSA UNIDADE SÃO GONÇALO HOSPITAL VETERINÁRIO ADÍLIO SANTOS DE AZEVEDO (HV-ASA)	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	Estabelecido em: 02/06/2023 Revisado em: JUN/2025 VERSÃO: Nº 01

ATIVIDADE: O setor de atendimento clínico de grandes animais é composto por um ambulatório, oito baias de alvenaria e três currais sem revestimento no piso. Distribuídos nessa área existem dois troncos de contenção sendo um para bovinos e um para equinos.

OBJETIVOS:
Oferecer a todos os colaboradores e envolvidos nas atividades com animais de grande porte o conhecimento sobre as regras de funcionamento do setor e as condutas técnicas adotadas durante os atendimentos clínicos.

EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL UTILIZADOS DURANTE O ATENDIMENTO CLÍNICO

- Jaleco ou macacão
- Botas de borracha
- Avental
- Luva de procedimento
- Luva de toque retal
- Máscara descartável

INSTRUMENTOS UTILIZADOS DURANTE O EXAME CLÍNICO

- Luvas de procedimento
- Luvas de palpação retal
- Estetoscópio
- Termômetro clínico
- Fita de pesagem
- Plessímetro
- Martelo plessimétrico
- Caneca de fundo escuro
- Agulha hipodérmica 25 x 0,80 mm
- Pinça de dissecação com dente
- Máscara descartável

PROCEDIMENTOS DE ATENDIMENTO CLÍNICO DE GRANDES ANIMAIS

- Recepção do animal
- Contenção adequada em brete ou com auxílio de cabresto e cordas
- Avaliação clínica
- Alta com prescrição de receita com o tratamento e recomendações para casos de acometimentos leves
- Internamento com alocação dos animais em baias em casos de acometimentos moderados e graves que necessitem de acompanhamento veterinário
- Higienização dos materiais de trabalho reutilizáveis utilizando-se água e detergente, secagem com papel toalha

e desinfecção com álcool a 70º, após cada atendimento.

- Descarte de materiais perfurocortantes em recipientes apropriados e resistentes à perfuração.

PROCEDIMENTOS USUAIS DE HIGIENIZAÇÃO DOS AMBIENTES

Higienização dos ambientes é realizada por pessoal treinado de acordo com normas de biossegurança e utilizando os EPIs adequados. De acordo com o porte dos animais e o nível de contaminação das baias, os animais são realocados periodicamente para ambientes limpos. Há um período de vazio sanitário na baia, de no mínimo duas semanas, após a saída de um animal para a ocupação por outro animal. Os procedimentos de higienização de ambientes e equipamentos são descritos no Quadro 01.

Quadro 01: Procedimentos operacionais padrão de higienização de ambientes e equipamentos.

Ambiente / Equipamento	Periodicidade	Insumos	EPIs	Procedimento	Responsável
Piso do ambulatório	Diária	Água, sabão e hipoclori-to de sódio a 1%	Luvas e botas de borracha	Recolhimento de dejetos. Lavagem com água e sabão. Aplicação de solução à base de hipoclorito de sódio a 1%. Aguardar agir por no mínimo 30 minutos. Enxaguar, retirar o excesso com rodo e aguardar secar.	Funcionário terceirizado
Bancadas e mesas	Diária	Álcool a 70º.	Luvas de borracha	Aplicação da solução de álcool a 70º e retirar com um pano limpo ou papel descartável	Funcionário terceirizado
Piso de baias de alvenaria	Quando um animal estiver internado	Água, sabão e hipoclori-to de sódio a 1%	Luvas e botas de borracha	Recolhimento de dejetos. Lavagem com água e sabão. Aplicação de solução à base de hipoclorito de sódio a 1%. Aguardar agir por no mínimo 30 minutos. Enxaguar, retirar o excesso com rodo e aguardar secar.	Funcionário terceirizado
Paredes das baias de alvenaria	Quando um animal estiver internado	Água, sabão e hipoclori-to de sódio a 1%	Luvas e botas de borracha	Lavagem com água e sabão. Aplicação de solução à base de hipoclorito de sódio a 1%. Aguardar agir por no mínimo 30 minutos. Enxaguar e aguardar secar.	Funcionário terceirizado
Currais sem revestimento no piso	Quando um animal estiver internado	Limpeza mecâni-ca por varredu-ra	Luvas e botas de borracha	Recolhimento de dejetos. Limpeza mecânica por varredura.	Funcionário terceirizado
Lixeiras	Semanal-mente	Água, sabão e hipoclori-to de sódio a 1%	Luvas e botas de borracha	Lavagem com água e sabão. Enxaguar. Aplicação de solução de hipoclorito de sódio a 1%. Aguardar agir por no mínimo 30 minutos.	Funcionário terceirizado

				Enxaguar e secar.	
Janelas	Trimestral-mente	Água e sabão	Luvas	Lavagem com água e sabão. Secagem com pano limpo	Funcionário terceirizado
Ventiladores	Trimestral-mente	Água, detergente e hipoclorito de sódio a 1%	Luvas	Limpeza com solução à base de água, detergente e hipoclorito de sódio. Secagem com pano limpo	Funcionário terceirizado
Armários	Semanal-mente	Álcool a 70º	Luvas	Aplicação da solução de álcool a 70º e retirar com um pano limpo ou papel descartável	Funcionário terceirizado
Cordas e cabrestos	Mensalmen-te	Água e sabão	Luvas	Lavagem com água e sabão. Secagem ao sol	Funcionário terceirizado
Bretes de contenção	Diariamente após cada atendimento	Água e sabão	Luvas e botas de borracha	Lavagem com água e sabão	Funcionário terceirizado
Estetoscópio	Diariamente após cada atendimento	Água, sabão e álcool a 70º	Luvas	Lavagem com água e sabão, secagem com papel toalha e desinfecção com álcool a 70º	Técnico administrativo
Termômetro clínico	Diariamente após cada atendimento	Água, sabão e álcool a 70º	Luvas	Lavagem com água e sabão, secagem com papel toalha e desinfecção com álcool a 70º	Técnico administrativo
Fita de pesagem	Diariamente após cada atendimento	Água, sabão e álcool a 70º	Luvas	Lavagem com água e sabão, secagem com papel toalha e desinfecção com álcool a 70º	Técnico administrativo
Plessímetro	Diariamente após cada atendimento	Água, sabão e álcool a 70º	Luvas	Lavagem com água e sabão, secagem com papel toalha e desinfecção com álcool a 70º	Técnico administrativo
Martelo plessimétrico	Diariamente após cada atendimento	Água, sabão e álcool a 70º	Luvas	Lavagem com água e sabão, secagem com papel toalha e desinfecção com álcool a 70º	Técnico administrativo
Caneca de fundo escuro	Diariamente após cada atendimento	Água, sabão e álcool a 70º	Luvas	Lavagem com água e sabão, secagem com papel toalha e desinfecção com álcool a 70º	Técnico administrativo
Pinça de dissecação com dente	Diariamente após cada atendimento	Água, sabão e álcool a 70º	Luvas	Lavagem com água e sabão, secagem com papel toalha e desinfecção com álcool a 70º	Técnico administrativo

GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS SÓLIDOS DE SAÚDE

O gerenciamento de resíduos sólidos de saúde é realizado por empresa contratada pelo Instituto Federal da

Paraíba. O lixo comum é coletado de acordo com normas da gestão municipal.	
ELABORADO POR: Dr. Rodrigo Formiga Leite	**APROVADO POR:** _____ FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP):
CLÍNICA CIRÚRGICA DE GRANDES ANIMAIS

SETOR: **CLÍNICA CIRÚRGICA DE GRANDES ANIMAIS**

IFPB CAMPUS SOUSA UNIDADE SÃO GONÇALO HOSPITAL VETERINÁRIO ADÍLIO SANTOS DE AZEVEDO (HV-ASA)	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	Estabelecido em: 02/06/2023 Revisado em: JUN/2025 VERSÃO: Nº 01

ATIVIDADE: O setor de atendimento cirúrgico é composto por sala de preparação e medicação pré-anestésica, sala cirúrgica, sala de recuperação e corredor periférico onde é realizada a desinquinação da equipe cirúrgica. Na sala cirúrgica existem a mesa cirúrgica, calha cirúrgica, mesa para materiais e aparelho de anestesia inalatória.

OBJETIVOS:
Oferecer a todos os colaboradores e envolvidos nas atividades de atendimento cirúrgico de animais de grande porte o conhecimento sobre as regras de funcionamento e as condutas técnicas adotadas durante esse atendimento.

EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL UTILIZADOS DURANTE OS PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

- Gorro
- Máscara descartável
- Calçado específico utilizado apenas no setor de cirurgia ou utilização de propé
- Pijama cirúrgico
- Capote cirúrgico estéril
- Luvas estéreis

INSTRUMENTOS UTILIZADOS DURANTE OS PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

- Panos de campo estéreis
- Instrumental cirúrgico estéril
- Fios de sutura estéreis
- Agulhas de sutura estéril
- Seringas estéreis
- Agulhas hipodérmicas estéreis de diversos calibres
- Lâminas de bisturi estéreis

PROCEDIMENTOS EFETUADOS NO ATENDIMENTO CIRÚRGICO DE GRANDES ANIMAIS

- Recepção do animal
- Realização da sedação
- Preparação do animal e campo operatório
- Realização da anestesia
- Colocação do animal em mesa cirúrgica ou calha cirúrgica, dependendo do porte do animal. Em alguns casos, a cirurgia é realizada com o animal em estação
- Realização do procedimento cirúrgico
- Condução o animal à sala de recuperação
- Internamento hospitalar por, no mínimo, 24 horas
- Descarte de materiais perfurocortantes em recipientes apropriados e resistentes à perfuração.
- Encaminhamento dos materiais reutilizáveis para o setor de expurgo

PROCEDIMENTOS USUAIS DE HIGIENIZAÇÃO DOS AMBIENTES

Higienização dos ambientes é realizada por pessoal treinado de acordo com normas de biossegurança e utilizando os EPIs adequados. Os procedimentos de higienização de ambientes e equipamentos são descritos no Quadro 01.

Quadro 01: Procedimentos operacionais padrão de higienização de ambientes e equipamentos.

Ambiente / Equipamento	Periodicidade	Insumos	EPIs	Procedimento	Responsável
Piso da sala de preparação	Após cada atendi-mento	Água, sabão e hipoclorito de sódio a 1%	Luvas e botas de borracha	Recolhimento de dejetos. Lavagem com água e sabão. Aplicação de solução à base de hipoclorito de sódio a 1%. Aguardar agir por no mínimo 30 minutos. Enxaguar, retirar o excesso com rodo.	Funcionário terceirizado
Paredes da sala de preparação	Semanal-mente	Água, sabão e hipoclorito de sódio a	Luvas e botas de borracha	Lavagem com água e sabão. Aplicação de solução à base de hipoclorito de sódio a 1%.	Funcionário terceirizado

		1%		Aguardar agir por no mínimo 30 minutos. Enxaguar e aguardar secar.	
Piso da sala cirúrgica	Após cada atendi-mento	Água, sabão e hipoclorito de sódio a 1%	Luvas e botas de borracha	Lavagem com água e sabão. Aplicação de solução à base de hipoclorito de sódio a 1%. Aguardar agir por no mínimo 30 minutos. Enxaguar e retirar o excesso com rodo.	Funcionário terceirizado
Paredes da sala cirúrgica	Semanalm ente	Água, sabão e hipoclorito de sódio a 1%	Luvas e botas de borracha	Lavagem com água e sabão. Aplicação de solução à base de hipoclorito de sódio a 1%. Aguardar agir por no mínimo 30 minutos. Enxaguar e aguardar secar.	Funcionário terceirizado
Ar condiciona-do	Semanal-mente	Água, detergente e hipoclorito de sódio a 1%	Luvas e máscara descartá-vel	Aplicação de solução à base de água, detergente e hipoclorito de sódio a 1%, com auxílio de um pano limpo, na estrutura externa do aparelho que fica dentro da sala cirúrgica	Funcionário terceirizado
Bancada da sala cirúrgica	Diaria-mente	Água, detergente e hipoclorito de sódio a 1%	Luvas e botas de borracha	Aplicação de solução à base de água, detergente e hipoclorito de sódio a 1%. Enxaguar e secar com pano limpo	Funcionário terceirizado
Armário da sala cirúrgica	Semanal-mente	Água, detergente e hipoclorito de sódio a 1%	Luvas e botas de borracha	Aplicação de solução à base de água, detergente e hipoclorito de sódio a 1%. Enxaguar e secar com pano limpo	Funcionário terceirizado
Mesa cirúrgica	Após cada atendi-mento	Água, detergente e hipoclorito de sódio a 1%	Luvas e botas de borracha	Aplicação de solução à base de água, detergente e hipoclorito de sódio a 1%. Enxaguar e secar com pano limpo	Funcionário terceirizado
Calha cirúrgica	Após cada atendi-mento	Água, detergente e hipoclorito	Luvas e botas de borracha	Aplicação de solução à base de água, detergente e hipoclorito de sódio a 1%.	Funcionário terceirizado

		de sódio a 1%		Enxaguar e secar com pano limpo	
Mesa para materiais	Após cada atendi-mento	Álcool a 70º	Luvas	Aplicação da solução de álcool a 70º e retirar com um pano limpo ou papel descartável	Funcionário terceirizado
Aparelho de anestesia inalatória	Semanal-mente	Álcool a 70º	Luvas	Aplicação da solução de álcool a 70º e retirar com um pano limpo ou papel descartável	Funcionário terceirizado
Piso da sala de recuperação	Após cada atendi-mento	Água, sabão e hipoclorito de sódio a 1%	Luvas e botas de borracha	Recolhimento de dejetos. Lavagem com água e sabão. Aplicação de solução à base de hipoclorito de sódio a 1%. Aguardar agir por no mínimo 30 minutos. Enxaguar, retirar o excesso com rodo e aguardar secar.	Funcionário terceirizado
Paredes da sala de recuperação	Semanal-mente	Água, sabão e hipoclorito de sódio a 1%	Luvas e botas de borracha	Lavagem com água e sabão. Aplicação de solução à base de hipoclorito de sódio a 1%. Aguardar agir por no mínimo 30 minutos. Enxaguar e aguardar secar.	Funcionário terceirizado
Lixeiras	Semanal-mente	Água, sabão e hipoclorito de sódio a 1%	Luvas e botas de borracha	Lavagem com água e sabão. Enxaguar. Aplicação de solução de hipoclorito de sódio a 1%. Aguardar agir por no mínimo 30 minutos. Enxaguar e secar.	Funcionário terceirizado
Janelas	Semanal-mente	Água e sabão	Luvas	Lavagem com água e sabão. Secagem com pano limpo	Funcionário terceirizado
Cordas e cabrestos	Mensal-mente	Água e sabão	Luvas	Lavagem com água e sabão. Secagem ao sol	Funcionário terceirizado
Estetoscópio	Diaria-mente após cada atendi-mento	Água, sabão e álcool a 70º	Luvas	Lavagem com água e sabão, secagem com papel toalha e desinfecção com álcool a 70º	Técnico administrativo
Termômetro	Diaria-	Água, sabão	Luvas	Lavagem com água e sabão,	Técnico

clínico	mente após cada atendi-mento	e álcool a 70º		secagem com papel toalha e desinfecção com álcool a 70º	administrativo

GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS SÓLIDOS DE SAÚDE

O gerenciamento de resíduos sólidos de saúde é realizado por empresa contratada pelo Instituto Federal da Paraíba. O lixo comum é coletado de acordo com normas da gestão municipal.

ELABORADO POR:	**APROVADO POR:**
Dr. Rodrigo Formiga Leite	_____ FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP):
LABORATÓRIO DE REPRODUÇÃO ANIMAL

SETOR: REPRODUÇÃO ANIMAL

IFPB CAMPUS SOUSA UNIDADE SÃO GONÇALO HOSPITAL VETERINÁRIO ADÍLIO SANTOS DE AZEVEDO (HV-ASA)	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	Estabelecido em: 02/06/2023 Revisado em: JUN/2025 VERSÃO: Nº 01

ATIVIDADE: Realizar procedimentos laboratóriais que envolvam a reprodução animal.

OBJETIVOS:
Oferecer a todos os colaboradores e envolvidos nas atividades do laboratório de reprodução animal o conhecimento sobre as regras de funcionamento e as condutas técnicas adotadas.

ASSUNTO: Citologia vaginal

1- OBJETIVO:
Distinguir a fase do ciclo estral de acordo com as características citológicas do epitélio vaginal

2- FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA:
A vagina é um canal que faz parte do aparelho reprodutor das fêmeas, estendendo-se da cervix uterina até a vulva. A parede vaginal é constituida por três camadas: mucosa, muscular e adventícia. Onde as mudanças na morfologia células podem identificar as fases do ciclo estral, podendo as células ser classificadas em:

- Basais- células muito pequenas com formato uniforme quase redondo com pouco citoplasma marcando o periodo não reprodutivo.
- Parabasais- são células uniformes, arredondadas, possuindo um núcleo grande com pouco citoplasma, sendo observadas em fêmeas que não entraram no período fértil.
- Intermediárias: são células maiores que as parabasais tendo formato esférico, oval ou poliédrico, sendo caracterizada com aumento do citoplasma e não do núcleo, marcando o início do período reprodutivo.
- Superficias: são células grandes e achatadas, com formato irregular ou poliédrico com citoplasma transparente basofílico e núcleo denso picnótico, localizado centralmente, podendo ser anucleadas, marcando a fase reprodutiva, ou cio.

3- MATERIAL/REAGENTES:
Microscópio
Lâminas de vidro
Coloração rápida para hematologia (Panótico)
Swab

4- PROCEDIMENTOS
Clínica- Passar o swab na vagina da fêmea lentamente em movimento circular
Em seguida: corar pelo método panótico rápido. Deixando a lâmina 30 segundos em cada tubo. Após lavar as lâminas em água corrente e aguardar secar.
Leitura: avaliar na lente objetiva (40x) células do epitélio vaginal

- Basais (a-b);
- Intermediarias (c-d);
- Superficiais (e-f);

- Fazer contagem das células encontradas em “zig-zag” na lâmina.

5- EPIs:
Jaleco mangas compridas e punho, calça comprida, sapato fechado, luvas e touca

6- GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS: descartar as lâminas em descarpack

ASSUNTO: Espermograma

1- OBJETIVO:
Avaliar a qualidade espermática de reprodutores

2- FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA:

O espermograma é um exame complementar ao andrológico que analisa as condições físicas e a composição do sêmem. É explorado para avaliar a função produtora do testículo e problemas de esterilidade. São analisados fatores macroscópicos, como o volume, aspecto, coloração, odor e também fatores microscópicos, que incluem a concentração de espermatozoides, motilidade (capacidade de locomoção) espermática total e progressiva, vigor (vitalidade espermática) e morfologia dos gametas.

3- MATERIAL/REAGENTES:

Microscópio
Lâminas de vidro
Lamínulas
Corante Rosa Bengala
Pipeta 20 µl
Ponteiras
Placa aquecedora
Tubos falcon
Tubo cônico tipo Eppendorf
Óleo de imersão

4- PROCEDIMENTOS

Clínica- cão: Coletar o sêmen em tubos ou sacos estéreis através da técnica de mão enluvada que consiste em massagear as glândulas para exposição do pênis.

Animais domésticos de médio e pequeno porte: coletar por vagina artificial o sêmen.

Levar imediatamente o frasco contendo sêmen ao laboratório.

Avaliações visualmente os aspectos macroscópicos do sêmen:

- Cor- característica da espécie
- Odor- característico da espécie
- Aspecto- leitoso (ruim) ou cremoso (bom)
- Volume- característico da espécie

Avaliações microscópicas do sêmen:

Previamente: deixar as lâminas em placa aquecedora a 37°C

- Retira-se dos tubos contendo sêmen 10 a 20µL e põe na lâmina, depois levemente coloca-se a lamínula em cima do sêmen contido na lâmina. Ao microscópio no aumento de 10x avalia-se subjetivamente:
- Motilidade (0-100%) - valores ideais: acima de 70%
- Vigor (0-5) - valores ideais: 3 e 4 (ideal)

Para avaliação da concentração adiciona-se 20µL sêmen a 20µL de solução formol salina ou água em um tubo cônico (Eppendorf) e aguarda (5 minutos) decantar em seguida goteja-se 10 a 20 µL dessa solução na Câmara de Neubauer (espermatozoides/mm^3) para contagem celular. A leitura deverá ser realizada observando 25 campos alternados no aumento de 400x.

Para avaliação da morfologia espermática coloca-se 10 µL de sêmen sobre lâmina + 10 µL do corante rosa bengala, homogeiniza. Em seguida, cobre-se com lamínula, e retira-se o excesso com papel absorvente. Após um minuto avalia-se sob microscopia óptica comum (100x). Devem ser avaliados de 100 a 200 espermatozoides.

5- EPIs:

Jaleco mangas compridas e punho, calça comprida, sapato fechado, luvas e touca

6- GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS: Descartar lâminas e lamínulas em descarpack.

NORMAS DE HIGIENIZAÇÃO DOS AMBIENTES E EQUIPAMENTOS DOS LABORATÓRIOS

1- OBJETIVO:

- Objetivo desse Procedimento Operacional Padrão - POP é apresentar aos colaboradores dos Laboratórios Acadêmicos dessa IES o conhecimento das regras gerais para limpeza dos laboratórios que norteiam as Boas Práticas nos Laboratórios (BPLs) visando minimizar os riscos, maximizar a eficiência no uso dos laboratórios.

2 – HIGIENIZAÇÃO DE SUPERFÍCIES E EQUIPAMENTOS:

Cada laboratório, de acordo com a classe de risco que apresenta, deve ter sua rotina própria de higienização. Entretanto, de modo geral, devem ser observados procedimentos e periodicidade das rotinas de higienização.

- Após cada aula prática, devem ser retirados os equipamentos/materiais utilizados;
- As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas, pelo menos, uma vez ao dia e sempre depois de qualquer derramamento de material;
- Todos os materiais/equipamentos devem ser adequadamente limpos após a utilização, de acordo com as respectivas rotinas;
- O recolhimento do material utilizado em procedimento práticos, sua limpeza e guarda, é da responsabilidade do corpo técnico do laboratório;
- A limpeza da área geral do laboratório deve ser realizada por pessoal treinado e informado sobre as normas de biossegurança, usando EPI adequado;
- Os resíduos sólidos ou líquidos devem ser inativados ou descontaminados antes de serem descartados corretamente;
- Resíduos biológicos ou com possibilidade de contaminação deve ser descartado em local apropriado;
- Material pérfuro-cortante deve ser descartado em recipientes apropriados e resistentes a perfuração.

Ambientes / Equipamento	**Periodicidade**	**Material utilizado para limpeza**	**EPI s utilizados**	**Procedimento**	**Responsável**
Geladeiras	Mensalmente	Água, sabão e álcool 70%.	Jaleco, gorro, mascara, sapatos fechados e luvas	Transferir o conteúdo para outro refrigerador; lavar com água e sabão; enxaguar e secar com pano limpo ou papel absorvente antes de ligar e recolocar o material. Após a limpeza, descontaminar com álcool 70%, esfregando as superfícies internas e externas até evaporação	Técnicos do Setor
Lixeiras	Semanalmente	Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio a 1%.	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Lavar com água e sabão; enxaguar; aplicar solução de hipoclorito a 1% e deixar agir por 30 minutos; secar com pano limpo ou papel absorvente.	Higienização
Paredes	Trimestralmente	Água e sabão	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Limpeza.	Higienização

Pias	Diariamente	Água, sabão e álcool 70%	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Limpeza com água, detergente ou sabão neutro e esponja. Quando houver manchas, tirar com esponja de aço e saponáceo. Após a limpeza, fazer a descontaminação com álcool 70% e pano seco e limpo. Esfregando até evaporar por 2 vezes	Higienização
Pisos	Diariamente	Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio a 1%.	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Preparar 1 balde com hipoclorito de sódio 1% (balde A); Preparar outro balde com hipoclorito de sódio 1% (balde B) Iniciar a partir de dentro do local para fora; Molhar o pano ou o MOP na solução de hipoclorito (balde A); Enxaguar o MOP ou o pano na 2ª solução desinfetante (balde B) e aplicar no piso;	Higienização
	Após derramamento de substâncias ou contaminação	Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio a 1%.	Jaleco, gorro, óculos, mascara, sapatos fechados e luvas	Remover a contaminação; lavar o piso com água e sabão; remover o excesso de água; aplicar solução de hipoclorito 1% e deixar agir por 30 minutos; enxaguar e secar com pano limpo e seco.	Técnicos do Setor

Bancadas	Diariamente**:** Antes do início das atividades de cada turno. Após contaminação com respingos ou derramamentos de material biológico	Água, sabão e álcool 70%. Água, sabão, álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1%;		Descontaminação com álcool 70% e pano seco Cobrir a área com papel absorvente ou gaze; Colocar cuidadosamente hipoclorito de sódio a 1%; Deixar agir por 20 minutos; Desprezar os resíduos, no **<u>lixo contaminado;</u>** Limpar a área com água, sabão e esponja; Secar com pano e aplicar álcool 70% até evaporação.	Técnicos do Setor Técnicos do Setor e Higienização
Vidros da janela	Quinzenal	Água, sabão e álcool 70%.	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Se houver sujidade aparente, limpar primeiro com água, detergente ou sabão neutro e esponja ou pano; Pode substituir o detergente pelo limpador multiuso; Aplicar o produto "Limpa vidro" na superfície e esfregar vigorosamente; O "Limpa vidro" pode ser substituído por álcool absoluto; **Retirar o Limpa vidro com pano limpo e seco ou levemente úmido.**	Higienização
Filtro de condicionador de ar	Mensalmente	Água, sabão e hipoclorito a 1%	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Retirar o filtro; Lavar com água e sabão; Deixar de molho na solução de hipoclorito a 1% p/ 30 min; Enxaguar e retira o excesso de água pressionando sobre uma superfície absorvente limpa e recolocar.	Higienização

Banho Maria	Quinzenal	Água, sabão e álcool 70%	Jaleco, gorro, mascara, sapatos fechados e luvas.	Passar a esponja com água e detergente ou sabão neutro nas superfícies; Retirar o excesso do detergente com um pano umedecedor em água; Passar álcool 70% em todas as superfícies e deixar secar por evaporação.	Técnicos do Setor
Centrifuga	Diariamente	Água, sabão e álcool 70%	Jaleco, gorro, mascara, sapatos fechados e luvas.	Retirar as caçapas, suportes e rotor; Lavá-los com água, sabão ou detergente neutro e esponja sob água corrente; Limpar o interior da centrífuga com pano umedecido em água e detergente; Passar álcool 70%, pano seco e limpo até evaporação; Esguichar álcool 70% nas caçapas, utilizando uma pinceta; e deixá-las secarem invertidas.	Técnicos do Setor
	Após contaminação	Água, sabão, álcool 70% e hipoclorito a 1%	Jaleco, gorro, óculos, mascara, sapatos fechados e luvas.	Desligar a centrífuga e aguardar 10 minutos; Retirar as peças desmontáveis e encaminhá-las para autoclavação; Se houver pedaços de vidro, recolher com a pinça e desprezar no coletor para perfurocortantes contaminados; Colocar papel absorvente, gaze ou algodão e cobrir com hipoclorito de sódio 1% o interior da centrífuga; Aguardar 30	Técnicos do Setor

				minutos; Retirar os resíduos e desprezar no **lixo contaminado;** Passar pano umedecido com água e detergente e depois álcool 70%.	
Capela de Fluxo Laminar	Antes de iniciar o trabalho	Água, álcool 70% para a cabine, luz UV	Jaleco, gorro, mascara, sapatos fechados e luvas.	Limpar toda a superfície interna da cabine com álcool 70%; Verificar se existem pipetas, ponteiras (preferencialmente com filtros) e tubos suficientes para o experimento; Colocar o pipetador dentro da capela; Ligar a ventilação da cabine e a luz UV por 10 a 15 minutos antes do uso	Técnicos do Setor
	Durante o uso	álcool 70% para a cabine	Jaleco, gorro, mascara, sapatos fechados e luvas.	Conduzir as manipulações no centro da cabine, mantendo o vidro frontal na posição; Minimizar os movimentos dentro da cabine.	
	Após o termino do trabalho	Água, álcool 70% para a cabine, luz UV	Jaleco, gorro, mascara, sapatos fechados	Limpar e guardar o pipetador automático desligado e carregando; Limpar a superfície de trabalho da cabine com álcool 70%; Deixar a cabine e a luz UV ligadas por 10 a 15 minutos; Desligar o fluxo laminar completamente. Anualmente. Filtros e lâmpadas devem ser trocados quando necessário.	Técnicos do Setor
Microscópio	Semanalmente	Água, álcool 70% e álcool isopropilico para as objetivas	Jaleco, gorro, mascara, sapatos fechados e luvas.	Aplicar uma compressa umedecida em água e limpar as superfícies do microscópio. Passa álcool 70% em todas as superfícies do	Técnicos do Setor

				microscópio e deixar secar por evaporação. **Limpar as lentes com álcool isopropilico.**	
Lupas	Semanalmente	Água, álcool 70% e álcool isopropilico para as objetivas	Jaleco, gorro, mascara, sapatos fechados e luvas.	Aplicar uma compressa umedecida em água e limpar as superfícies das lupas. Passa álcool 70% em todas as superfícies do microscópio e deixar secar por evaporação. **Limpar as lentes com álcool isopropilico.**	Técnicos do Setor
Balança Eletrônica	Semanalmente	Água, sabão e álcool 70%	Jaleco, gorro, mascara, sapatos fechados e luvas.	ar a balança, retirar cuidadosamente com um pincel de cerdas macias qualquer resíduo dos pratos, obedecendo ao sentido centrífugo; um pano umedecido em água limpa às superfícies da balança; também deve ser limpo, delicadamente com um pano úmido em água. Se precisar, usar detergente líquido neutro; álcool 70% em todas as superfícies e deixar secar pela evaporação. **OBS.: Sempre que houver sujidade aparente, deve-se limpar os resíduos com um pincel de cerdas macias**.	Técnicos do Setor

3- PROCEDIMENTOS USUAIS DE DESINFECÇÃO:

Para desinfecção de ambientes, materiais e pele/mãos, antes ou após as aulas práticas ou procedimentos experimentais, deve-se utilizar soluções adequadas, de acordo com o tipo de procedimento realizado, sendo as mais comuns:

Álcool a 70% (etanol ou isopropílico):

- Utilização: descontaminação da pele, equipamentos e bancadas;
- Procedimento: deve ser utilizado após a superfície ser lavada com água e sabão e retirado o excesso de água; deve-se passar um pano limpo ou papel absorvente embebido com o álcool a 70% na superfície a ser descontaminada;
- Tempo necessário para descontaminação: mínimo de 15 minutos;
- **Preparação da solução: 73,3 mL de etanol a 95º + 100 mL de água destilada.**

Hipoclorito de sódio a 1%:

- Utilização: descontaminação de pisos, vidrarias, jalecos e inativação química de material biológico;
- Procedimento: deve ser utilizado após a superfície ou material ser lavado com água e sabão e retirado o excesso de água; deve-se passar um pano limpo ou papel absorvente embebido com a solução na superfície a ser descontaminada, ou mergulhar o material (vidrarias, jalecos, etc.) para que todas as partes fiquem em contato com a solução;
- Tempo de atuação: mínimo de 30 minutos;
  Preparação da solução: a água sanitária comercialmente vendida apresenta-se numa concentração de 2 a 2,5%; para obter-se a concentração aproximada a 1%, deve-se diluir em água em partes iguais.

ELABORADO POR:	APROVADO POR:
Prof. Danilo Lourenço de Albuquerque	_____ FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP):
LABORATÓRIO DE DIAGNÓSTICO POR IMAGEM EM ANIMAIS DE GRANDE E PEQUENO PORTE.

SETOR: **IMAGINOLOGIA VETERINÁRIA (RADIOLOGIA VETERINÁRIA)**

IFPB CAMPUS SOUSA UNIDADE SÃO GONÇALO HOSPITAL VETERINÁRIO ADÍLIO SANTOS DE AZEVEDO (HV-ASA)	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	Estabelecido em: 02/06/2023 Revisado em: JUN/2025 VERSÃO: Nº 01

ATIVIDADE: Estudar o uso de radiações para avaliar e agir sobre estruturas internas dos pacientes por meio de equipamentos. Dessa forma, a radiologia é utilizada para diagnóstico, acompanhamento e tratamento de doenças. Um diagnóstico feito por meio de imagens permite saber qual região do corpo do paciente animal está sendo afetada e qual a extensão da doença. Este é um ponto crucial para decidir quando uma intervenção cirúrgica é necessária (por exemplo), além de orientar o médico veterinário no procedimento a ser escolhido.

OBJETIVOS:
Determinar procedimentos adequados e sistematizados visando a adequada aquisição de imagens radiográficas como ferramenta de diagnóstico complementar junto ao Hospital Veterinário.

1- EQUIPAMENTOS DO SETOR
Ampola de Raio X
Colimador
Transformador de Energia
Mesa para aquisição de imagem
Aparelho de Raio X digital
Ecran de 18 x 24 cm
Ecran de 24 x 30 cm
Ecran de 30 x 40 cm

2- PROCEDIMENTOS
1. A recepcionista acolherá o paciente externo, verificando qual o tipo de exame que ele necessita realizar;
2. Feito isso, a recepcionista dará as devidas orientações para a marcação do exame e o devido preparo para o paciente estar apto a realizar o exame (por exemplo, jejum, quando necessário).
3. Feito o agendamento do exame, será solicitado que o tutor possa trazer exames anteriores, para auxiliar na interpretação.
4. O setor do Hospital Veterinário realizará o preenchimento de uma ficha de solicitação de exame, contendo as seguintes informações:
a. Nome no paciente
b. Registro Geral (número de identificação junto ao Hospital)
c. Nome do Tutor, endereço e telefone
d. Área do exame, planos radiográficos e número de imagens a serem adquiridas.
e. Suspeita clínica que motiva o exame.
5. O Técnico em Radiologia irá verificar se o pedido do exame está devidamente preenchido.
6. Em seguida, o técnico abre um novo exame no sistema operacional do aparelho, identificando no sistema, qual o peciente, raça, sexo, idade, tutor, número do registro geral, área onde será realizado o exame e quais imagens serão captadas.
7. Após a preparação do sistema para a aquisição da imagem, o Técnico em Radiologia chama o paciente conforme ordem de exames, ou com base em prioridades (emergência, urgência, internados e prioridades determinadas por lei).
8. Ao entrar na sala de aquisição da imagem de Raio X, o técnico realiza a orientação do tutor/acompanhante quanto a paramentação (avental de chumbo e protetor de pescoço de chumbo).
9. O paciente é então posicionado na sala de Raio X de acordo com o exame a ser realizado.
10. Feito o exame, o paciente e o tutor aguardarão o resultado.
11. O Técnico em Radiologia realiza a revelação da imagem no programa Core, ficando disponível para visualização no computador e armazenado no sistema.
12. As imagens podem ser, a pedido do tutor ou do Médico Veterinário, salvas em compact disc (CD) e entregues.
13. Caso as imagens estejam boas e reflitam adequadamente a região avaliada, o paciente será liberado.
14. As fichas de solicitação serão armazenadas em pastas específicas e os exames serão registrados em livro de Atas específico.

3- EPIs

Jaleco com mangas compridas
Aventais de Chumbo
Luvas de Chumbo
Protetor de Pescoço de Chumbo
Calça
Sapato Fechado (tipo tênis)

4- GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS

Todo o resíduo resultante de exames e aulas práticas (por exemplo: luvas de procedimento, papel toalha, etc.) devem ser descartados de acordo com as normas de biossegurança.

NORMAS DE HIGIENIZAÇÃO DOS AMBIENTES E EQUIPAMENTOS DO SETOR DE RAIO X.

1- OBJETIVO:

- Objetivo desse Procedimento Operacional Padrão - POP é apresentar aos colaboradores dos Laboratórios Acadêmicos dessa IES o conhecimento das regras gerais para limpeza dos laboratórios que norteiam as Boas Práticas nos Laboratórios (BPLs) visando minimizar os riscos, maximizar a eficiência no uso dos laboratórios.

2 – HIGIENIZAÇÃO DE SUPERFÍCIES E EQUIPAMENTOS:

Cada laboratório, de acordo com a classe de risco que apresenta, deve ter sua rotina própria de higienização. Entretanto, de modo geral, devem ser observados procedimentos e periodicidade das rotinas de higienização.

- Após cada aula prática, devem ser retirados os equipamentos/materiais utilizados;
- As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas, pelo menos, uma vez ao dia e sempre depois de qualquer derramamento de material;
- Todos os materiais/equipamentos devem ser adequadamente limpos após a utilização, de acordo com as respectivas rotinas;
- O recolhimento do material utilizado em procedimento práticos, sua limpeza e guarda, é da responsabilidade do corpo técnico do laboratório;
- A limpeza da área geral do laboratório deve ser realizada por pessoal treinado e informado sobre as normas de biossegurança, usando EPI adequado;
- Os resíduos sólidos ou líquidos devem ser inativados ou descontaminados antes de serem descartados corretamente;
- Resíduos biológicos ou com possibilidade de contaminação deve ser descartado em local apropriado;
- Material pérfuro-cortante deve ser descartado em recipientes apropriados e resistentes a perfuração.

Ambientes / Equipamento	Periodicidade	Material utilizado para limpeza	EPI s utilizados	Procedimento	Responsável
Lixeiras	Semanalmente	Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio a 1%.	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Lavar com água e sabão; enxaguar; aplicar solução de hipoclorito a 1% e deixar agir por 30 minutos; secar com pano limpo ou papel absorvente.	Higienização
Paredes	Trimestralmente	Água e sabão	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Limpeza.	Higienização
Pia	Diariamente	Água, sabão e álcool 70%	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Limpeza com água, detergente ou sabão neutro e esponja. Quando houver	Higienização

				manchas, tirar com esponja de aço e saponáceo Após a limpeza, fazer a descontaminação com álcool 70% e pano seco e limpo. Esfregando até evaporar por 2 vezes	
Pisos	Diariamente	Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio a 1%.	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Preparar 1 balde com hipoclorito de sódio 1% (balde A); Preparar outro balde com hipoclorito de sódio 1% (balde B) Iniciar a partir de dentro do local para fora; Molhar o pano ou o MOP na solução de hipoclorito (balde A); Enxaguar o MOP ou o pano na 2ª solução desinfetante (balde B) e aplicar no piso;	Higienização
	Após derramamento de substâncias ou contaminação	Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio a 1%.	Jaleco, gorro, óculos, mascara, sapatos fechados e luvas	Remover a contaminação; lavar o piso com água e sabão; remover o excesso de água; aplicar solução de hipoclorito 1% e deixar agir por 30 minutos; enxaguar e secar com pano limpo e seco.	Técnicos do Setor
Bancadas	Diariamente**:** Antes do início das atividades de cada turno. Após contaminação com respingos ou derramamentos de material biológico	Água, sabão e álcool 70%. Água, sabão, álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1%;		Descontaminação com álcool 70% e pano seco Cobrir a área com papel absorvente ou gaze; Colocar cuidadosamente hipoclorito de sódio a 1%; Deixar agir por 20 minutos; Desprezar os resíduos, no **<u>lixo contaminado;</u>** Limpar a área com água, sabão e esponja; Secar com pano e aplicar álcool 70%	Técnicos do Setor Técnicos do Setor e Higienização

				até evaporação.	
Vidros da janela	Quinzenal	Água, sabão e álcool 70%.	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Se houver sujidade aparente, limpar primeiro com água, detergente ou sabão neutro e esponja ou pano; Pode substituir o detergente pelo limpador multiuso; Aplicar o produto "Limpa vidro" na superfície e esfregar vigorosamente; O "Limpa vidro" pode ser substituído por álcool absoluto; **Retirar o Limpa vidro com pano limpo e seco ou levemente úmido.**	Higienização
Filtro de condicionador de ar	Mensalmente	Água, sabão e hipoclorito a 1%	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Retirar o filtro; Lavar com água e sabão; Deixar de molho na solução de hipoclorito a 1% p/ 30 min; Enxaguar e retira o excesso de água pressionando sobre uma superfície absorvente limpa e recolocar.	Higienização

ELABORADO POR: Prof. Francisco Leo Nascimento de Aguiar	**APROVADO POR:** _____ FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP):
LABORATÓRIO DE DIAGNÓSTICO POR IMAGEM EM ANIMAIS DE GRANDE E PEQUENO PORTE.

SETOR: **IMAGINOLOGIA VETERINÁRIA (ULTRASSONOGRAFIA VETERINÁRIA)**

IFPB CAMPUS SOUSA UNIDADE SÃO GONÇALO HOSPITAL VETERINÁRIO ADÍLIO SANTOS DE AZEVEDO (HV-ASA)	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	Estabelecido em: 02/06/2023 Revisado em: JUN/2025 VERSÃO: Nº 01

ATIVIDADE: A ultrassonografia veterinária é uma técnica de diagnóstico complementar amplamente utilizada em medicina veterinária, sendo considerada, em seus objetivos, uma técnica de exame eficiente e pouco invasiva. Tem sido um exame bastante solicitado, já que é bastante tolerada pelos pacientes veterinários e segura. Sua principal vantagem consiste na obtenção de imagens em tempo real, com a observação da morfologia, textura e tamanho de vários órgãos. Um exame ultrassonográfico pode detectar a presença de massas estranhas, acúmulo de lesões ou líquidos em tecidos moles, etc.

OBJETIVOS:
Determinar procedimentos adequados e sistematizados visando a adequada aquisição de imagens ultrassonográficas como ferramenta de diagnóstico complementar junto ao Hospital Veterinário.

1- EQUIPAMENTOS DO SETOR
3 aparelhos de ultrassom
3 sondas de avaliação ultrassonográfica (1 microconvexa, 1 convexa e 1 transretal)
1 Mesa para procedimento
1 Cama para
1 Computador
1 Tricótomo
1 Reservatório de gel para ultrassom.
Álcool em Gel para limpeza

2- PROCEDIMENTOS
1. A recepcionista acolherá o paciente externo, verificando qual o tipo de exame que ele necessita realizar;
2. Feito isso, a recepcionista dará as devidas orientações para a marcação do exame e o devido preparo para o paciente estar apto a realizar o exame (por exemplo, jejum, quando necessário).
3. Feito o agendamento do exame, será solicitado que o tutor possa trazer exames anteriores, para auxiliar na interpretação.
4. O setor do Hospital Veterinário realizará o preenchimento de uma ficha de solicitação de exame, contendo as seguintes informações:
a. Nome no paciente
b. Registro Geral (número de identificação junto ao Hospital)
c. Nome do Tutor, endereço e telefone
d. Área do exame e órgãos específicos para serem utilizados.
e. Suspeita clínica que motiva o exame.
5. O Ultrassonografista irá verificar se o pedido do exame está devidamente preenchido.
6. Em seguida, o ultrassonografista abre um novo exame no sistema operacional do aparelho, identificando no sistema, qual o peciente, raça, sexo, idade, tutor, número do registro geral, área onde será realizado o exame e qual região será avaliada.
7. Após a preparação do sistema para a aquisição da imagem, o Ultrassonografista chama o paciente conforme ordem de exames, ou com base em prioridades (emergência, urgência, internados e prioridades determinadas por lei).
8. Ao entrar na sala de aquisição da imagem de ultrassom, o Ultrassonografista realiza a orientação do tutor/acompanhante quanto a contenção do paciente, colocando-o sobre a cama específica.
9. O paciente é então posicionado na sala de Ultrassonografia de acordo com o exame a ser realizado.
10. Feito o exame, o paciente e o tutor serão liberados.
11. As imagens podem ser, a pedido do tutor ou do Médico Veterinário, impressas e entregues.
12. As fichas de solicitação serão armazenadas em pastas específicas e os exames serão registrados em livro de Atas específico.

3- EPIs

Jaleco com mangas compridas
Luvas de procedimento
Calça
Sapato Fechado (tipo tênis)

4- GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS

Todo o resíduo resultante de exames e aulas práticas (por exemplo: luvas de procedimento, papel toalha, etc.) devem ser descartados de acordo com as normas de biossegurança.

NORMAS DE HIGIENIZAÇÃO DOS AMBIENTES E EQUIPAMENTOS DO SETOR DE RAIO X.

1- OBJETIVO:

- Objetivo desse Procedimento Operacional Padrão - POP é apresentar aos colaboradores dos Laboratórios Acadêmicos dessa IES o conhecimento das regras gerais para limpeza dos laboratórios que norteiam as Boas Práticas nos Laboratórios (BPLs) visando minimizar os riscos, maximizar a eficiência no uso dos laboratórios.

2 – HIGIENIZAÇÃO DE SUPERFÍCIES E EQUIPAMENTOS:

Cada laboratório, de acordo com a classe de risco que apresenta, deve ter sua rotina própria de higienização. Entretanto, de modo geral, devem ser observados procedimentos e periodicidade das rotinas de higienização.

- Após cada aula prática, devem ser retirados os equipamentos/materiais utilizados;
- As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas, pelo menos, uma vez ao dia e sempre depois de qualquer derramamento de material;
- Todos os materiais/equipamentos devem ser adequadamente limpos após a utilização, de acordo com as respectivas rotinas;
- O recolhimento do material utilizado em procedimento práticos, sua limpeza e guarda, é da responsabilidade do corpo técnico do laboratório;
- A limpeza da área geral do laboratório deve ser realizada por pessoal treinado e informado sobre as normas de biossegurança, usando EPI adequado;
- Os resíduos sólidos ou líquidos devem ser inativados ou descontaminados antes de serem descartados corretamente;
- Resíduos biológicos ou com possibilidade de contaminação deve ser descartado em local apropriado;
- Material pérfuro-cortante deve ser descartado em recipientes apropriados e resistentes a perfuração.

Ambientes / Equipamento	Periodicidade	Material utilizado para limpeza	EPI s utilizados	Procedimento	Responsável
Lixeiras	Semanalmente	Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio a 1%.	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Lavar com água e sabão; enxaguar; aplicar solução de hipoclorito a 1% e deixar agir por 30 minutos; secar com pano limpo ou papel absorvente.	Higienização
Paredes	Trimestralmente	Água e sabão	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Limpeza.	Higienização
Pia	Diariamente	Água, sabão e álcool 70%	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Limpeza com água, detergente ou sabão neutro e esponja. Quando houver manchas, tirar com esponja de aço e saponáceo Após a limpeza, fazer a descontaminação	Higienização

				com álcool 70% e pano seco e limpo. Esfregando até evaporar por 2 vezes	
Pisos	Semanalmente	Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio a 1%.	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Preparar 1 balde com hipoclorito de sódio 1% (balde A); Preparar outro balde com hipoclorito de sódio 1% (balde B) Iniciar a partir de dentro do local para fora; Molhar o pano ou o MOP na solução de hipoclorito (balde A); Enxaguar o MOP ou o pano na 2ª solução desinfetante (balde B) e aplicar no piso;	Higienização
	Após derramamento de substâncias ou contaminação	Água, sabão e solução de hipoclorito de sódio a 1%.	Jaleco, gorro, óculos, mascara, sapatos fechados e luvas	Remover a contaminação; lavar o piso com água e sabão; remover o excesso de água; aplicar solução de hipoclorito 1% e deixar agir por 30 minutos; enxaguar e secar com pano limpo e seco.	Técnicos do Setor
Bancadas	Diariamente**:** Antes do início das atividades de cada turno. Após contaminação com respingos ou derramamentos de material biológico	Água, sabão e álcool 70%. Água, sabão, álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1%;		Descontaminação com álcool 70% e pano seco Cobrir a área com papel absorvente ou gaze; Colocar cuidadosamente hipoclorito de sódio a 1%; Deixar agir por 20 minutos; Desprezar os resíduos, no **<u>lixo contaminado;</u>** Limpar a área com água, sabão e esponja; Secar com pano e aplicar álcool 70% até evaporação.	Técnicos do Setor Técnicos do Setor e Higienização
Vidros da janela	Quinzenal	Água, sabão e álcool 70%.	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Se houver sujidade aparente, limpar primeiro com água, detergente ou sabão	Higienização

				neutro e esponja ou pano; Pode substituir o detergente pelo limpador multiuso; Aplicar o produto “Limpa vidro” na superfície e esfregar vigorosamente; O “Limpa vidro” pode ser substituído por álcool absoluto; **Retirar o Limpa vidro com pano limpo e seco ou levemente úmido.**	
Filtro de condicionador de ar	Mensalmente	Água, sabão e hipoclorito a 1%	Uniforme, gorro, sapatos fechados e luvas	Retirar o filtro; Lavar com água e sabão; Deixar de molho na solução de hipoclorito a 1% p/ 30 min; Enxaguar e retira o excesso de água pressionando sobre uma superfície absorvente limpa e recolocar.	Higienização

ELABORADO POR: Prof. Francisco Leo Nascimento de Aguiar	**APROVADO POR:** _____ FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIRA DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP): LABORATÓRIOS DE MICROBIOLOGIA VETERINÁRIA		
SETOR: MICROBILOGIA VETERINÁRIA		
IFPB CAMPUS SOUSA UNIDADE SÃO GONÇALO HOSPITAL VETERINÁRIO ADÍLIO SANTOS DE AZEVEDO (HV-ASA)	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	Estabelecido em: 02/06/2023 Revisado em: JUN/2025 VERSÃO: Nº 01
ATIVIDADE: LABORATÓRIO DE CONFECÇÃO DE MEIOS DE CULTURA		
OBJETIVOS: Definir regras e condutas a serem observadas durante a utilização dos equipamentos de microscopia do laboratório de Microbiologia Veterinária.		

1. INTRODUÇÃO

PROCEDIMENTOS GERAIS

PREPARAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DE MEIOS DE CULTURA

Os meios comerciais devem ser hidratados em pequena quantidade de água até que todo o meio fique úmido e só depois se deve acrescentar o restante da água.
Os meios preparados não comerciais devem ser pesados separadamente em papel manteiga ou papel alumínio e adicionados em um único frasco (normalmente em béquer), hidratar em pequena quantidade de água até que todo o meio fique úmido e só depois se deve acrescentaro restante da água.
Sempre que for necessário levar o meio para fundir, usar vidro Pyrex, aquecer sobre a tela de amianto ou similar e tripé, no bico de Bunsen.
Usar sempre luvas térmicas apropriadas para laboratório para manipular vidrarias quentes;Sempre que for usado o termo *"esterilizar em autoclave"*, o tempo de esterilização é de 15minutos e a temperatura de 121ºC.
Sempre que for usado o termo *"esterilizar por filtração",* usar o filtro com porosidade de 0,22micra, recomendado para partículas bacterianas.
Quando distribuir o meio antes de autoclavar, os tubos não precisam estar esterilizados; Quando distribuir o meio após a autoclavação, os tubos, frascos, placas, pipetas e vidrarias oumateriais auxiliares obrigatoriamente devem ser estéreis.
Os meios devem ser autoclavados com as tampas semi-abertas, para que a esterilização sejapor igual em todo o conteúdo dos tubos - tampas fechadas não permitem a entrada do vapor. **CONTROLE DE QUALIDADE DE ESTERILIDADE E CRESCIMENTO**
Para todos os meios confeccionados, colocar no mínimo 10% do lote preparado na estufa 35 ±1°C por 24 horas para o controle de esterilidade.
Não deve haver mudança de cor nem crescimento de qualquer colônia.
Para o controle de crescimento, sempre que possível usar cepas ATCC, que são cepas dereferências de origem e padrão definido de provas para a sua caracterização.
Se não for possível o uso de cepas ATCC, usar cepas 100% positivas para os controles dequalidade de crescimento realizados.

RECOMENDAÇÕES GERAIS

Evitar usar meios vencidos (liofilizados e prontos para uso); se usar, certificar-se com o controlede crescimento de que realmente está funcionando.
Não usar meios prontos para uso em tubos ou placas que estejam ressecados.
Observar com atenção para as instruções de alguns inóculos que são específicos para algunsmeios de cultura.

Recomenda-se o uso de tubos com tampa de rosca, pois evitam o ressecamento rápido do meio(tamanho dos tubos utilizados geralmente são de 11 por 100 mm).
As placas de Petri são de 50, 90 ou 150 mm de diâmetro.

- Todos os meios confeccionados devem ser devidamente identificados com o nome, data defabricação, data de validade e tipo de armazenamento.

- Todos os meios de placa devem ser embalados em filme plástico PVC transparente para evitar o ressecamento.
- Evitar o uso de sacos plásticos para embalar as placas, pois a água de condensação formadafacilita a proliferação de fungos; para meios de cultura em tubos, colocar em sacos plásticos, procurando tirar o excesso de ar.

Mod IV – **2**

2. MEIOS DE CULTURA PARA TRANSPORTE E CONSERVAÇÃOCARY

BLAIR

PRINCÍPIO

- meio de Cary Blair foi formulado à partir do meio de Stuart, uma vez que microrganismospatogênicos e outros coliformes fecais sobrevivem bem neste meio.
- A carência de uma fonte de nitrogênio impede consideravelmente a multiplicação demicrorganismos e a composição nutritiva garante a sobrevivência deles.
- O que difere este meio do meio de Stuart, é a adição de uma solução salina balanceada detampão fosfato inorgânico e omitindo da fórmula o azul de metileno.

UTILIDADE

- Transporte de material fecal e conseqüente conservação dos microrganismos.

FÓRMULA/ PRODUTO

- Meios comercial: Meio de transporte Cary Blair.

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Fundir completamente;
- Distribuir 7 ml por tubo;
- Esterilizar em autoclave;
- Após retirar da autoclave, manter os tubos em posição vertical para solidificar.
- pH: 7,4 +/- 0,2

CONTROLE DE QUALIDADE

- Crescimento bom (com 0, 24 e 48 horas de crescimento): *Shigella flexneri* ATCC 12022.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar de 4 a 10°C de 6 a 8 semanas.

INOCULAÇÃO

- Introduzir um "swab" estéril de madeira nas fezes recém coletadas;
- Após a coleta, introduzir imediatamente o "swab" no meio de cultura e quebrar a ponta dahaste, de modo que a parte que contém o algodão fique no meio de cultura;
- Fechar o tubo;
- Manter em temperatura ambiente até o momento de semear nos meios seletivos adequados.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: Branco opalescente.
- Como este é um meio de transporte, não há evidência de crescimento bacteriano.

RECOMENDAÇÕES

Não deixar o meio com a tampa aberta ou semi aberta após a semeadura.

- Não semear fezes coletadas com mais de 6 horas.

SALINA TAMPONADA

Mod IV - **3**

PRINCÍPIO

- Meio líquido tamponado que mantém a bactéria viável.

UTILIDADE

- Meio de transporte de fezes.

FÓRMULA /PRODUTO

- Fórmula:

NaCl 4,2 g
Fosfato dipotássico anidro 3,1 g
Glicerina bidestilada 300 ml Água
destilada 700 ml **PROCEDIMENTOS**

- Distribuir 10 ml em cada tubo de 16 x 160 mm;
- Esterilizar em autoclave.

CONTROLE DE QUALIDADE

- *Shigella flexneri* ATCC 12022

INOCULAÇÃO

- Inocular 2 g da amostra de fezes e homogeneizar;
- Incubar a 35 ±1°C por 12 a 18 horas.

INTERPRETAÇÃO

- O crescimento é indicado pela turbidez do meio.
- Após incubação semear 3 a 4 alçadas da amostra em uma placa de SS e/ou MacConkey.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar de 4 a 8°C por até 3 meses.

MEIO STUART

PRINCÍPIO

- A carência de uma fonte de nitrogênio impede consideravelmente a multiplicação demicroorganismos e a composição nutritiva garante a sobrevivência deles.

UTILIDADE

- Transporte de diversos materiais e conseqüente conservação dos microorganismos.
- Conservação de microorganismos patogênicos como: *Haemophilus* spp., *Pneumococcus*,*Salmonella* spp., *Shigella* spp. entre outros.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meios comercial: Meio de transporte STUART

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Fundir completamente;
- Distribuir 7 ml por tubo;Mod

IV - **4**

- Esterilizar em autoclave;
- Após retirar da autoclave, manter os tubos em posição vertical para que solidifiquem.

□ pH: 7,4 +/- 0,2

CONTROLE DE QUALIDADE

- Crescimento bom (com 0, 24 e 48 horas de crescimento):

Haemophilus influenzae ATCC 10211 *Shigella flexneri* ATCC 12022 *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305*Bordetella pertussis* ATCC 9340 **CONSERVAÇÃO E VALIDADE**

- Conservar embalado de 4 a 8°C por 1 a 2 semanas.

INOCULAÇÃO

- O material biológico deve ser coletado com auxílio de um "swab" estéril com haste de madeira;
- Após a coleta, introduzir imediatamente o "swab" no meio de cultura e quebrar a ponta dahaste, de modo que a parte que contém o algodão fique no meio de cultura;
- Fechar o tubo;
- Manter em temperatura ambiente até o momento de semear nos meios seletivos adequados.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: Branco opalescente.
- Como este é um meio de transporte, não há evidência de crescimento bacteriano.

RECOMENDAÇÕES

- Não deixar o meio com a tampa aberta ou semi aberta após a semeadura.

ÁGAR NUTRIENTE

PRINCÍPIO

- O Nutriente Ágar é um meio relativamente simples, de fácil preparação e barato, muito usadonos procedimentos do laboratório de Microbiologia.

UTILIDADE

- nutriente ágar tem várias aplicações no laboratório de Microbiologia, e pode ser utilizado paraanálise de água, alimentos e leite como meio para cultivo preliminar das amostras submetidas à exames bacteriológicos e isolamento de organismos para culturas puras.
- uso mais freqüente é para a conservação e manutenção de culturas em temperatura ambienteneste ágar, como método opcional para os laboratórios que não dispõem do método da crioconservação (congelamento das cepas em freezer à - 70ºC).
- Usado para observar esporulação de espécies de bacilos Gram positivos.

FÓRMULA / PRODUTO

- Produto: Nutriente Ágar
- Fórmula:

Extrato de carne 3 g
Peptona 5 g
Ágar ágar 15 g
Água destilada 1000 mlpH:
6,8 +/- 0,2

Mod IV - **5**

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar os componentes;
- Fundir;
- Distribuir 3 ml por tubo;
- Esterilizar em autoclave;
- Após retirar da autoclave, inclinar os tubos ainda quentes para que solidifiquem com asuperfície em forma de "bico de flauta" (ângulo de 45º).

CONTROLE DE QUALIDADE

- Crescimento bom a excelente*: Escherichia coli* ATCC 25922 *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305**CONSERVAÇÃO E VALIDADE**
- Conservar embalado de 4 a 8°C por até 3 meses.

INOCULAÇÃO

- Estriar a superfície inclinada do meio;
- Incubar.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: branco opalescente
- Positivo: Crescimento na superfície do ágar;
- Negativo: Ausência de crescimento.

RECOMENDAÇÕES

- Usar tubos com tampa de rosca para evitar ressecamento do ágar.
- Repicar as cepas conservadas a cada 3 meses.
- Conservar as cepas após o crescimento no meio em temperatura ambiente.
- Por ser um meio nutritivo, a ausência de crescimento não deverá ocorrer.Mod IV - **6**

3. MEIOS PARA CRESCIMENTO E ISOLAMENTOÁGAR CHOCOLATE

PRINCÍPIO

- Meio de Ágar Chocolate é amplamente utilizado para o cultivo de microrganismos exigentes,embora cresçam neste meio quase todos os tipos de microrganismos.
- À base do meio, é adicionado sangue de cavalo, carneiro ou coelho em temperatura alta, o que faz com que as hemácias lisem, liberando hemina e hematina, compostos fundamentais para o crescimento dos microrganismos exigentes.

Observação: se utilizar sangue de carneiro ou coelho no lugar do sangue de cavalo, adicionaros suplementos a base de NAD (coenzima I) e cisteína após resfriar a base achocolatada à aproximadamente 50ºC.

UTILIDADE

- Crescimento de microrganismos exigentes *Haemophilus* spp., *Neisseria* spp., *Branhamellacatarrhalis* e *Moraxella* spp.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meios comerciais: BHI Ágar *, Columbia Ágar Base, Blood Ágar Base, Mueller Hinton Ágar.
- Sangue de cavalo, carneiro ou coelho desfibrinado.
- Recomenda-se o uso da base de BHI Ágar, por apresentar melhor crescimento das cepasexigentes, principalmente cepas de *Haemophilus* spp.

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Esterilizar em autoclave;
- Esfriar a base à temperatura de aproximadamente 80ºC;

- Adicionar 5 ml de sangue desfibrinado de cavalo para cada 100 ml de base;
- Homogeneizar bem até lisar totalmente as hemácias e o meio apresentar uma cor castanhoescuro (chocolate);
- Distribuir em placas de Petri de 90 mm de diâmetro.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Crescimento bom a excelente: *Haemophilus influenzae* ATCC 10211.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar de 4 a 10°C por 4 meses.

INOCULAÇÃO

- Estriar a superfície do meio, usando a técnica de semeadura para isolamento;
- Incubar a 35ºC por 24 horas.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: castanho escuro (chocolate).
- Colônias de tamanho pequeno a médio, com pigmento amarelo: sugestivo de *Neisseria* spp, *Branhamella catarrhalis* ou *Moraxella* spp.
- Colônias pequenas e delicadas, com pigmento creme claro: sugestivo de *Haemophilus* spp.

RECOMENDAÇÕES

- Lembrar que é um meio rico e crescem vários tipos de microrganismos.Mod IV - **7**
- Fazer esfregaço de todas as colônias suspeitas e corar pela técnica de Gram, para confirmarse trata-se ou não de *Neisseria* spp., *Branhamella catarrhalis* ou *Moraxella* spp. (cocos Gram negativos reniformes) ou *Haemophilus* spp. (bacilos Gram negativos delicados e pleomérficos).
- Não usar sangue de cavalo vencido.
- Por ser um meio rico, o crescimento a partir de materiais biológicos em geral costuma ser abundante. Sempre que necessário, isolar a colônia em estudo para os procedimentos de identificação, para não correr o risco de trabalhar com cepas misturadas.

ÁGAR THAYER-MARTIN CHOCOLATE

PRINCÍPIO

- É um meio rico e superior a outros meios de cultivo destinados para o isolamento de *Neisseriagonorrhoeae* e *Neisseria meningitidis* , pois contém em sua fórmula antibióticos que inibem o crescimento de *Neisserias* saprófitas e outras bactérias, quando em amostras colhidas de sítioscontaminados.

UTILIDADE

- Usado para o isolamento seletivo de *Neisseria gonorrhoeae* e *Neisseria meningitidis,* a partirdo material de investigação.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Thayer-Martin Ágar Base.
- Sangue desfibrinado de carneiro.
- Suplemento I: mistura de inibidores (antibióticos).
- Suplemento II: mistura de fatores de crescimento.

PROCEDIMENTOS

- Dissolver os suplementos liofilizados conforme instruções do fabricante (normalmente emágua destilada estéril que já acompanha o kit) e reservar;
- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante (normalmente prepara-se 200 mlde base para cada frasco de suplementos I e II);
- Esterilizar em autoclave;
- Esfriar a base a 80ºC;
- Adicionar 5 ml de sangue desfibrinado de carneiro para cada 100 ml de base;
- Homogeneizar bem até lisar totalmente as hemácias e o meio apresentar uma cor castanhoescura (chocolate);
- Deixar resfriar a base a 50ºC;
- Adicionar assepticamente à base resfriada os suplementos previamente dissolvidos;
- Homogeneizar delicadamente para não formar bolhas;
- Distribuir em placas de Petri de 90 mm ou 4 ml por tubos e inclinar para a superfície ficar emforma de "bico de flauta" (ângulo de 45º).

ÁGAR SALMONELLA-SHIGELLA (SS)

PRINCÍPIO

- Ágar SS possue componentes (sais de bile, verde brilhante e citrato de sódio) que inibemmicrorganismos Gram positivos.
- A incorporação de lactose ao meio permite diferenciar se o microrganismo é lactose positiva(bactérias que fermentam a lactose produzem ácido que na presença do indicador vermelho neutro resultando na formação de colônias de cor rosa), e bactérias que não fermentam a lactose formam colônias transparentes.
- Tissulfato de sódio e o citrato férrico permitem a detecção de H^2S evidenciado por formaçãode colônias de cor negra no centro.

Mod IV - **8**

UTILIDADE

- Selecionar e isolar espécies de *Salmonella* e *Shigella*, em amostras de fezes, alimentos e água.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Ágar SS.

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Aquecer o meio até fundir o ágar;
- **Não autoclavar**;
- Resfriar até 50°C e distribuir 20 a 25 ml em placas de Petri 90 mm estéreis;
- Deixar em temperatura ambiente até resfriar;
- Embalar as placas com plástico PVC transparente e guardar em geladeira de 4 a 8°C.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028.
- Negativo: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

INOCULAÇÃO

- Inocular as placas e incubar por 18 a 24 horas;
- Se negativo após 24 horas, reincubar por mais 24 horas.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: vermelho alaranjado.
- Colônias com centro negro (H^2S) ou colônias incolores: suspeita de *Salmonella.*
- Colônias incolores: suspeita de *Shigella* spp.
- Colônias cor de rosa ou vermelho: suspeita de *Escherichia coli* ou *Klebsiella* spp.
- As bactérias não fermentadoras de lactose são incolores.
- As bactérias fermentadoras de lactose aparecem na cor rosa.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar embalado de 4 a 8°C por 3 meses.

RECOMENDAÇÕES

- Ausência de crescimento ou crescimento escasso, reincubar a placa mais 24 horas.
- Não autoclavar, pois a alta temperatura degrada o açúcar contido no meio.

CALDO SELENITO

PRINCÍPIO

- Tem propriedades que inibem coliformes e outras espécies da flora intestinal comoestreptococos.

UTILIDADE

- Utilizado para o enriquecimento e isolamento de *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. em amostrasde fezes, urina e alimentos.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Selenito
- Novobiocina

PROCEDIMENTOS

Mod IV - **9**

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Aquecer até levantar fervura, homogeneizando de vez em quando;
- **Não autoclavar**;
- Aguardar esfriar e adicionar 0,04 g de novobiocina por litro de meio (novobiocina inibe o véude *Proteus* spp.);
- Distribuir 7 ml em tubos estéreis de 15x150 mm com tampa de rosca.

CONTROLE DE QUALIDADE

Crescimento:

- Preparar uma suspensão de *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Salmonella typhimurium* ATCC14028 na escala 0,5 de Mac Farland;
- Semear 0,01 ml da suspensão na placa de SS;
- Incubar a placa a 35 ±1°C por 12 a 18 horas. Positivo: crescimento da *Salmonella typhimurium.* Negativo: não á crescimento de *Escherichia coli.* **INOCULAÇÃO**
- Inocular 3 a 4 alçadas da amostra de fezes no meio de cultura;
- Incubar a 35±1°C por 12 a 18 horas.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: vermelho tijolo.
- Após incubação, semear com o auxílio de uma alça bacteriológica em meios seletivos eenriquecidos (SS, Mac Conkey, XLD, Hectoen).

CALDO TETRATIONATO

PRINCÍPIO

- Os sais de bile contidos no meio de tetrationato inibem microrganismos Gram positivos e aadição da solução de iodo inibe a flora intestinal normal de espécies fecais.

UTILIDADE

- Meio de enriquecimento para *Salmonella* spp.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Caldo Tetrationato.
- **Solução de Iodo para tetrationato:** para ser adicionado no caldo antes de semeada aamostra de fezes.

Iodo metálico 6,0 g Iodeto de potássio 5,0 gÁgua destilada 20,0 ml

PROCEDIMENTOS

Caldo tetrationato

- Pesar e hidratar o meio segundo instruções do fabricante;
- Aquecer até ferver;
- Distribuir 10 ml em tubos estéreis com tampa de rosca;
- Não autoclavar.

Solução de iodeto de potássio

- Macerar o iodeto de potássio e o iodo em um graal;
- Adicionar água aos poucos até dissolver completamente;
- Colocar em frasco âmbar.

CONTROLE DE QUALIDADE

Crescimento:

- Preparar uma suspensão de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 e uma cepa de *Escherichia coli*
ATCC 25922 na escala 0,5 de Mac Farland;
- Semear 0,01 ml da suspensão em uma placa de SS;
- Se houver crescimento de *Salmonella* e inibição de *Escherichia coli*, liberar o lote para uso.

INOCULAÇÃO

- Adicionar 0,2 ml da solução de iodo no tubo;
- Inocular 1a 3 g da amostra de fezes e homogeneizar vigorosamente;
- Incubar a 35 ±1°C por 12 a 18 horas.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: límpido com precipitado branco.
- O crescimento é indicado pela turbidez do meio.
- Após incubação, semear 3 a 4 alçadas da amostra em uma placa de SS e/ou Mac Conkey.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- **Tetrationato**: Conservar de 4 a 8°C por até 4 meses.
- **Solução de iodo**: Conservar em frasco âmbar a temperatura ambiente por até 12 meses.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo: *Neisseria gonorrhoeae* 43069 e *Neisseria meningitidis* 13090.
- Negativo: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar embalado de 4 a 8°C por até 3 meses.

INOCULAÇAO

- Usar a técnica de semeadura por esgotamento;
- Incubar em CO2 e umidade (jarra com vela acesa e um chumaço de algodão embebido emágua);
- Incubação por 48 horas.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: castanho escuro (chocolate).
- Colônias pequenas com pigmento creme: sugestivo de *Neisseria gonorrhoeae* e *Neisseriameningitidis*.
- Fazer esfregaço de todas as colônias suspeitas e corar pela técnica de Gram, para confirmarse trata-se ou não de *Neisseria* (diplococos Gram negativos reniformes).
- Confirmando a morfologia pelo Gram, seguir identificação com testes de oxidase e provas defermentação.

RECOMENDAÇÕES

- Antes de semear o material biológico aquecer o meio de cultura em estufa à 35ºC, poistemperaturas baixas podem inibir o crescimento de Neisserias;
- Não usar meio, suplementos e sangue vencidos;
- Se não for incubado em CO2 e não houver crescimento, pode ser um resultado falso -negativo, pois as *Neisserias* necessitam de atmosfera com o CO2 para o crescimento;
- Se não houver crescimento, incubar até 5 dias.**CALDO**

TIOGLICOLATO COM INDICADOR Mod IV - **10**

CONTROLE DE QUALIDADE

Crescimento:

- Preparar uma suspensão de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 e uma cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 na escala 0,5 de Mac Farland;
- Semear 0,01 ml da suspensão em uma placa de SS;
- Se houver crescimento de *Salmonella* e inibição de *Escherichia coli*, liberar o lote para uso.

INOCULAÇÃO

- Adicionar 0,2 ml da solução de iodo no tubo;
- Inocular 1a 3 g da amostra de fezes e homogeneizar vigorosamente;
- Incubar a 35 ±1°C por 12 a 18 horas.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: límpido com precipitado branco.
- O crescimento é indicado pela turbidez do meio.
- Após incubação, semear 3 a 4 alçadas da amostra em uma placa de SS e/ou Mac Conkey.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- **Tetrationato**: Conservar de 4 a 8°C por até 4 meses.
- **Solução de iodo**: Conservar em frasco âmbar a temperatura ambiente por até 12 meses.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo: *Neisseria gonorrhoeae* 43069 e *Neisseria meningitidis* 13090.
- Negativo: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar embalado de 4 a 8°C por até 3 meses.

INOCULAÇAO

- Usar a técnica de semeadura por esgotamento;
- Incubar em CO2 e umidade (jarra com vela acesa e algodão embebido em água);
- Incubação por 48 horas.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: castanho escuro (chocolate).
- Colônias pequenas com pigmento creme: sugestivo de *Neisseria gonorrhoeae* e *Neisseriameningitidis*.
- Fazer esfregaço de todas as colônias suspeitas e corar pela técnica de Gram, para confirmarse trata-se ou não de *Neisseria* (diplococos Gram negativos reniformes).
- Confirmando a morfologia pelo Gram, seguir identificação com testes de oxidase e provas defermentação.

RECOMENDAÇÕES

- Antes de semear o material biológico aquecer o meio de cultura em estufa à 35ºC, poistemperaturas baixas podem inibir o crescimento de Neisserias;
- Não usar meio, suplementos e sangue vencidos;
- Se não for incubado em CO2 e não houver crescimento, pode ser um resultado falso -negativo, pois as *Neisserias* necessitam de atmosfera com o CO2 para o crescimento;
- Se não houver crescimento, incubar até 5 dias.**CALDO**

TIOGLICOLATO COM INDICADOR Mod IV - **11**

PRINCÍPIO

- O meio de Tioglicolato dá suporte para o crescimento de vários microrganismos. O potencialde oxidação e redução baixo do meio neutraliza efeitos antibacterianos das espécies preservadas com mercúrio.
- A resazurina e o azul de metileno são indicadores da posição de oxidação de aeróbios e a dextrose incluída na fórmula é para os microrganismos que tem crescimento vigoroso na presença do carboidrato.

UTILIDADE

- Usado para o cultivo de microrganismos aeróbios, microaerófilos e anaeróbios.
- Usado para controle de esterilidade bacteriana de diversos materiais.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Tioglicolato caldo com indicador

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;

- Aquecer em bico de Bunsen, até dissolver completamente;
- Distribuir 5 ml por tubo;
- Esterilizar em autoclave.
- pH: 7,2 +/- 0,2

CONTROLE DE QUALIDADE

- Crescimento bom a excelente: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Streptococcus pyogenes* ATCC19615.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Temperatura ambiente: 3 meses.
- Entre 4 a 8ºC: 6 meses.

INOCULAÇÃO

- Com auxílio da alça bacteriológica, inocular o material biológico introduzindo a alça até ametade do tubo;
- Retirar a alça sem agitar o tubo;
- Incubar à 35 =/- 1ºC por 24 horas.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original: amarelo claro.
- Presença de crescimento: turvação do meio.
- Ausência de crescimento: meio permanece inalterado.
- Crescimento de microrganismos anaeróbios: crescimento na profundidade do meio.
- Crescimento de microrganismos aeróbios: crescimento na superfície do meio.

RECOMENDAÇÕES

- Não usar o meio quando estiver com cor rosa ou esverdeado na superfície, pois indica apresença de oxigênio no meio.
- Recomenda-se o uso do meio recém preparado, porém, se não houver a presença deoxigênio, pode-se usar um período maior. Não usar meios que estejam turvos.
- Não utilizar o meio quando o indicador atingir a metade do volume do meio.

CALDO TIOGLICOLATO SEM INDICADORPRINCÍPIO

- As substâncias redutoras tioglicolato, cisteína e sulfito de sódio produzem uma anaerobiosesuficiente para microrganismos anaeróbios exigentes.

UTILIDADE

- Usado para o cultivo de microrganismos anaeróbios.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Tioglicolato caldo sem indicador.

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;

- Aquecer em bico de Bunsen, até dissolver completamente;
- Distribuir 5 ml por tubo;
- Esterilizar em autoclave.
- pH: 7,2 +/- 0,2

CONTROLE DE QUALIDADE

- Crescimento bom a excelente: *Clostridium perfringens* ATCC 10543.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Temperatura ambiente: 18 meses.

INOCULAÇÃO

- Com auxílio da alça bacteriológica, inocular o material biológico introduzindo a alça até ofundo do tubo;
- Retirar a alça sem agitar o tubo;
- Incubar à 35 =/- 1ºC em jarra com gerador de anaerobiose durante 48 horas.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original: amarelo claro.
- Presença de crescimento: turvação do meio.
- Ausência de crescimento: meio permanece inalterado.

RECOMENDAÇÕES

- Não usar meios que estejam turvos.
- Se necessário, incubar um período superior à 48 horas.

ÁGAR MAC CONKEY

PRINCÍPIO

- O cristal violeta inibe o crescimento de microrganismos Gram positivos especialmenteenterococos e estafilococos.
- A concentração de sais de bile é relativamente baixa em comparação com outros meios, porisso não é tão seletivo para Gram negativos como, por exemplo, o ágar SS.

UTILIDADE

- Isolar bacilos Gram negativos (enterobactérias e não fermentadores) e verificar afermentação ou não da lactose.

FÓRMULA /PRODUTO

- Meio comercial: Ágar MacConkey.

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Aquecer sob agitação até fundir o ágar completamente;
- Esterilizar em autoclave;
- Resfriar até 50°C e distribuir 20 a 25 ml em placas de Petri 90 mm estéreis;
- Deixar em temperatura ambiente até resfriar;

- Embalar as placas com plástico PVC transparente e guardar em geladeira de 4 a 8°C.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo: *Proteus mirabilis* ATCC 12453 (não fermentador de lactose).
- Positivo: *Escherichia coli* ATCC 25922 (fermentador de lactose).
- Negativo: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

INOCULAÇÃO

- Inocular as placas e incubar por 18 a 24 horas;
- Se negativo após 24 horas, reincubar por mais 24 horas.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: rosa avermelhado.
- Crescimento de bacilos Gram negativos.
- Colônias cor de rosa: fermentadoras de lactose.
- Colônias incolores: não fermentadoras de lactose.
- Não há crescimento de cocos Gram positivos.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar as placas embaladas de 4 a 8°C por até 3 meses.

ÁGAR SANGUE

PRINCÍPIO

- O meio de Ágar sangue, usando uma base rica como abaixo descrita, oferece ótimas condições de crescimento a maioria dos microrganismos. A conservação dos eritrócitos íntegros favorecem a formação de halos de hemólise nítidos, úteis para a diferenciação de*Streptococcus* spp. E *Staphylococcus* spp.

UTILIDADE

- Usado para o isolamento de microrganismos não fastidiosos.
- Verificação de hemólise dos *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* spp.
- Usado na prova de satelitismo (para identificação presuntiva de *Haemophilus* spp.).

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Blood Ágar Base, Columbia Ágar Base, BHI Ágar, Mueller Hinton Ágar;
- Sangue desfibrinado de carneiro ou coelho: 5 ml para cada 100 ml de meio base. pH: 6,8 +/- 0,2

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante; Esterilizar em autoclave;
- Esfriar a base à +/- 50ºC;
- Adicionar 5 ml de sangue desfibrinado de carneiro para cada 100 ml de base;
- Homogeneizar delicadamente para não formar bolhas;
- Distribuir em placas de Petri de 90 mm de diâmetro.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Hemólise beta hemolítica: *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 ou *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Hemólise alfa hemolítica: *Streptococcus do grupo viridans* ou *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305.
- Hemólise gama (sem hemólise): *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ou *Staphylococcusepidermidis* ATCC 12228.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar de 4 a 10°C por 4 meses.

INOCULAÇÃO

- Estriar a superfície do meio, usando a técnica de semeadura para isolamento;
- No final da semeadura, picar o meio com a alça para verificar hemólise em profundidade;
- Incubar à 35ºC 24 horas.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: vermelho.
- Beta hemólise: presença de halo transparente ao redor das colônias semeadas (lise totaldos eritrócitos).
- Alfa hemólise: presença de halo esverdeado ao redor das colônias semeadas (lise parcialdos eritrócitos).
- Gama hemólise (sem hemólise): ausência de halo ao redor das colônias (eritrócitospermanecem íntegros).

RECOMENDAÇÕES

- Não usar sangue de carneiro vencido, pois o meio fica hemolisado ou com cor muito escura,dificultando o estudo de hemólise;
- Não usar sangue humano, pois alguns microrganismos não apresentam hemólise;
- Não adicionar o sangue na base do meio quente, pois as hemácias rompem-se, dificultandoo estude de hemólise;

Por ser um meio rico, o crescimento a partir de materiais biológicos em geral costuma serabundante, sempre que necessário, isolar a colônia em estudo para os procedimentos de identificação,para não correr o risco de trabalhar com cepas misturadas.

ÁGAR CLED – CYSTINE LACTOSE ELECTROLYTE DEFICIENTPRINCÍPIO

- Usado para isolamento e quantificação de microrganismos presentes em amostras urina. Adeficiência de eletrólitos inibe o véu de cepas de *Proteus*.

UTILIDADE

- Isolar e quantificar microrganismos Gram positivos, Gram negativos e leveduras.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Ágar Cled.Mod

IV - **15**

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Esterilizar em autoclave;
- Resfriar à +/- 50°C e distribuir de 20 a 25 ml em placas de Petri 90 mm estéreis;
- Deixar em temperatura ambiente até resfriar.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo:

Lactose positiva: *Escherichia coli* ATCC 25922: crescimento moderado a denso, colôniasmédias ou grandes amareladas, após 48 horas de incubação.

Lactose negativa: *Proteus vulgaris* ATCC 8427: crescimento moderado a denso, colôniasazuis translúcidas.

- Negativo: ausência de crescimento

INOCULAÇÃO

- Verificar técnica de semeadura quantitativa.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: azul claro.
- Colônias lactose positiva: cor amarela.
- Colônias lactose negativa: cor azul.

Características de crescimento:

- *Escherichia coli*: colônias opacas, amarelas com ligeira cor amarelo escuro no centro, comcerca de 1,25 mm de diâmetro, as não fermentadoras de lactose colônias azuis
- Espécies de *Klebsiella*: colônias muito mucosas, cor variável de amarelo a branco azulado
- Espécies de *Proteus*: colônias azul translúcidas, geralmente menor que *E.coli*

- Espécies de *Salmonella*: colônias planas, cor azul
- *Enterococcus faecalis*: colônias amarelas, com cerca de 0,5 mm de diâmetro
- *Staphylococcus aureus*: colônias amarelas, com cerca de 0,75 mm de diâmetro
- *Staphylococcus* coagulase negativa: colônias amarelo palha e brancas
- *Corynebacterium*: colônias pequenas e cinza
- *Lactobacilos*: colônias pequenas e com superfície rugosa
- *Pseudomonas aeruginosa*: colônias verdes, com superfície prateada e periferia rugosa

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar embalado de 4 a 8°C por até 3 meses.

RECOMENDAÇÕES

- Organismos que fermentam lactose baixam o pH e mudam a cor do meio de verde paraamarelo, podendo assim verificar se o microrganismo é lactose negativa ou positiva;
- Espécies de *Shigella* não crescem em meios deficientes em eletrólitos.

CALDO BHI – BRAIN HEART INFUSION

PRINCÍPIO

- É um meio derivado de nutrientes de cérebro e coração, peptona e dextrose.
- A peptona e a infusão são fontes de nitrogênio, carbono, enxofre e vitaminas.Mod IV - **16**
- A dextose é um carboidrato que os microrganismos utilizam para fermentação.

UTILIDADE

- Meio para cultivo de estreptococcos, pneumococos, meningococos, enterobactérias, nãofermentadores, leveduras e fungos.
- Pode ser utilizado na preparação do inóculo para teste de susceptibilidade aos antimicrobianos,
para realização de teste de coagulase em tubo, para teste de crescimento bacteriano a 42 e44°C
e para teste de motilidade em lâmina.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Caldo BHI (infusão de cérebro e coração).

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Distribuir 3,0 ml em tubos com tampa de rosca;
- Esterilizar em autoclave;
- Retirar os tubos da autoclave e deixar esfriar em temperatura ambiente.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo: *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305 e *Candida albicans* ATCC 10231.

- Negativo: meio sem inocular.

INOCULAÇÃO

- Com o auxílio de uma alça ou fio bacteriológico, inocular a colônia ou o material a sertestado - realizar o teste com colônias puras de 18 a 24 horas;
- Incubar a 35°C ±2 por 24 a 48 horas;
- Para isolamento de fungos incubar por até 5 dias.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: amarelo claro, límpido.
- Positivo: presença de turvação = crescimento bacteriano.
- Negativo: ausência de turvação.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar de 4 a 10°C por 6 meses.

RECOMENDAÇÕES

- Para cultivo de anaeróbios, acrescentar 0,1% de ágar.
- Para crescimento de *Haemophilus* e outros fastidiosos é necessário adição de suplementosa base de L-cisteína, NAD (fator V) e hemina (fator X).

LÖWENSTEIN JENSEN

PRINCÍPIO

- A base do meio é constituída por ovos integrais, o que permite amplo crescimento dasmicobactérias e o crescimento é satisfatório para o teste de niacina (que é positivo para *Mycobacterium tuberculosis*).

UTILIDADE

- Isolamento primário das micobactérias.Mod IV

- **17**

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Meio TB para Bacilos de Koch Seg. Löwenstein Jensen ou LöwensteinMedium Base
- Ovos de galinha frescos **Meio base - fórmula:** Fosfato monopotássico 1,2 gSulfato de magnésio 0,12 g Citrato de magnésio 0,3 g L-asparagina 1,8 g Fécula de batata 15,0 gGlicerol 6,0 ml

Ovos totais 500 ml
Solução de Verde de malaquita a 2% 10 ml

Solução de Verde de malaquita à 2% - Fórmula:

Verde de malaquita 2 g
Água destilada 100 ml

PROCEDIMENTOS

Preparação dos ovos:

- Escovar os ovos, um a um, com escova de cerdas macias;
- Deixar os ovos submersos em água e detergente comum, durante 30 minutos;
- Enxaguar com água corrente cuidadosamente um a um;
- Deixar os ovos submersos em álcool etílico a 70% durante 30 minutos;
- Retirar os ovos cuidadosamente e secar com pano estéril;
- Reservar os ovos.

Solução de Verde de malaquita a 2%:

- Pesar o verde de malaquita e adicionar a água;
- Homogeneizar bem até dissolver o corante;
- Esterilizar em vapor fluente durante 30 minutos;
- Reservar a solução.

Meio comercial:

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Adicionar o glicerol e aquecer o meio, agitando constantemente até ferver;
- Esterilizar em autoclave;
- Resfriar a base à 45 - 50ºC;
- Quebrar os ovos, um a um, cuidadosamente em copo de béquer estéril e transferir, um aum, para uma proveta estéril de 500 ml;
- Completar a proveta com ovos até completar 500 ml;
- Transferir os ovos para um copo de liqüidificador estéril - se não tiver liqüidificador própriopara laboratório, transferir os ovos para um balão de 1000 ml contendo pérolas de vidro detamanho médio, ambos estéreis;
- Homogeneizar os ovos;
- Passar os ovos para o balão que contém a base fria, filtrando em funil e gaze estéril;
- Adicionar o verde de malaquita;
- Homogeneizar bem;
- Deixar repousar durante 30 minutos para as bolhas da superfície estourarem;

- Distribuir 10 a 12 ml por tubo de rosca estéril; Colocar os tubos no coagulador inclinados com a superfície em forma de bico de flauta (ângulo de 45º) durante 50 minutos a 85ºC - se não tiver coagulador, pode-se coagular os ovos em banho de areia à 85ºC colocado em estufade esterilização, também por 50 minutos, tendo o cuidado de verificar a temperatura constantemente.

Meio não comercial:

- Diluir a L-asparagina em pouca água e dissolver aquecendo lentamente no bico de Bunsen;
- Acrescentar os demais componentes, exceto os ovos e o verde de malaquita;
- Esterilizar em autoclave;
- Seguir os passos 4 ao 14 listados acima.Mod IV

- **18**

CONTROLE DE QUALIDADE

- Esterilização: colocar todos os tubos em estufa;
- Crescimento bom a excelente:

Mycobacterium tuberculosis ATCC 25618
Mycobacterium avium ATCC 25291

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar entre 4 a 8ºC por 3 meses.

INOCULAÇÃO

- Para materiais biológicos de sítios contaminados, fazer descontaminação prévia pelastécnicas desejadas (Petroff, NALC, Lauril sulfato de sódio, Corper & Stoner modificado);
- Semear 5 gotas ou mais, cobrindo bem a superfície do meio;
- Manter os tubos inclinados com a tampa semi aberta até secar bem o inóculo;
- Depois de seco o inóculo, rosquear os tubos e incubar 60 dias à 35ºC;
- Semanalmente, abrir as tampas próximo ao bico de Bunsen para ventilar os cultivos eobservar a presença ou não de crescimento.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: verde claro
- Positivo: Crescimento de colônias amarelas
- Negativo: ausência de crescimento.

RECOMENDAÇÕES

- Como é um meio rico em proteínas, bactérias proteolíticas contaminam o meio,liqüefazendo-o, para isto, deve-se fazer uma leitura com 24 horas de incubação para tirar as culturas quepossam

ter contaminado;

- Não usar ovos velhos;
- Não quebrar mais que um ovo por vez, pois pode ter algum estragado e contaminar osdemais;
- Manter sempre mais que um béquer estéril para o caso de haver algum ovo estragado;
- Não liberar culturas negativas com tempo inferior a 60 dias de incubação, pois asmicobactérias desenvolvem-se lentamente;
- Fazer um esfregaço do crescimento e corar pela técnica de Ziehl para confirmar ser umBacilo Álcool Ácido Resistente, pois alguns contaminantes podem crescer com pigmento amarelo.

MEIO BIFÁSICO: LÖWENSTEIN E MIDDLEBROOK

PRINCÍPIO

- O meio é constituído de duas fases, uma sólida que é o meio de Löwenstein Jensen e uma líquida, que é o meio 7H-9, juntos fornecem os nutrientes necessários para o desenvolvimentodas micobactérias isoladas de materiais nobres.

UTILIDADE

- Sistema desenvolvido para o isolamento de micobactérias do sangue e de materiaispaucibacilares, como líquor, líquido pleural, biópsias, entre outros.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Meio TB para Bacilos de Koch Seg. Löwenstein Jensen ou LöwensteinMedium Base
- Meio comercial: Middlebrook 7H-9 broth
- Meio comercial: Middlebrook Enrichment (suplemento para enriquecimento).
- Ovos de galinha frescos

PROCEDIMENTOS

- Meio de Löwenstein Jensen: procedimento igual ao já descrito, distribuindo 12 ml do meioem frascos estéreis com capacidade para 100 ml (usar tampão de algodão e depois do meiopronto - parte sólida e líquida, substituir por tampa de borracha e lacre de alumínio) e coagulando osfrascos bem inclinados.
- **Meio Middlebrook 7H-9 broth:**

Pesar e hidratar conforme instruções do fabricante; Adicionar o glicerol, conforme instruções do fabricante;

Esterilizar em autoclave;
Resfriar a base à - 50ºC;
Adicionar o suplemento Middlebrook Enrichment, conforme instruções do fabricante;Homogeneizar bem;
Distribuir 15 ml em cada frasco de Löwenstein Jensen inclinado;Fazer o controle de qualidade de esterilidade;
Lacrar os frascos com tampa de borracha (previamente submersas em álcool etílico 70%durante 30 minutos) e lacre de alumínio.
pH: 6,6 +/- 0,2

CONTROLE DE QUALIDADE

- Crescimento bom a excelente:

Mycobacterium tuberculosis ATCC 27294 e *Mycobacterium fortuitum* ATCC 6841.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar os frascos embalados de 4 a 8°C por até 3 meses.

INOCULAÇÃO

- Por serem materiais estéreis, não é necessário a descontaminação;
- Colher assepticamente 5 ml de sangue e inocular no frasco ;
- Se for outro material, inocular até 5 ml de material;
- Incubar durante 60 dias à 35º /- 0,2;
- Banhar o meio sólido semanalmente.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: parte sólida: verde clara, parte líquida: âmbar claro.
- Positivo: turvação do meio líquido e crescimento de colônias amarelas no meio sólido.
- Negativo: ausência de turvação e crescimento nos meios líquido e sólido.

RECOMENDAÇÕES

- Não usar frascos com meio líquido turvo;
- Volumes de inóculos inferires a 2,5 ml podem resultar em culturas falso - negativas;
- Não liberar culturas negativas com tempo inferior a 60 dias de incubação, pois asmicobactérias desenvolvem-se lentamente;
- Fazer um esfregaço do crescimento e corar pela técnica de Ziehl para confirmar ser umBacilo Álcool Ácido Resistente, pois alguns contaminantes podem crescer com pigmento amarelo.

ÁGAR MYCOSEL

PRINCÍPIO

 A Cicloheximida, um dos componentes do meio, serve para selecionar dermatófitos ocloranfenicol inibe o crescimento de bactérias e alguns fungos filamentosos.

UTILIDADE

 Isolamento de fungos patogênicos, principalmente dermatófitos, a partir de material deinvestigação contaminado.

FÓRMULA / PRODUTO

 Meio comercial: Mycosel Ágar, Mycobiotic Ágar ou Ágar seletivo para fungos patogênicos.

PROCEDIMENTOS

 Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
 Esterilizar em autoclave;
 Resfriar à +/- 50ºC e distribuir em placas de 90 mm de diâmetro ou 4 ml por tubo;
 Se distribuir em tubos, deixar solidificar com inclinação em forma de bico de flauta (ângulode 45º).
□ pH: 6,9 +/- 0,1

CONTROLE DE QUALIDADE

 Crescimento bom a excelente: *Trichophyton verrucosum* ATCC 36058, *Candida albicans* ATCC
10231.
 Crescimento inibido: *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Candida tropicalis*, *Penicillium* spp.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

 Conservar embalado de 4 a 8°C por até 3 meses.

INOCULAÇÃO

 Inocular sempre dois tubos ou placas;
 Se em placa: semear com a técnica de semeadura quantitativa;
 Se em tubo: estriar na superfície inclinada do meio;
 Incubar um dos meios semeados em temperatura ambiente e o outro a 37ºC;
 Observar diariamente a presença ou não de crescimento;
 Incubar 40 dias.

INTERPRETAÇÃO

 Cor original do meio: amarelo claro opalescente.
 Após o crescimento, deve-se seguir a identificação do microrganismo que cresceu.

RECOMENDAÇÕES

 A ausência de crescimento não indica uma cultura negativa para fungos, pois alguns fungos

podem ter o crescimento inibido neste meio.

- Recomenda-se o uso de meios em tubos, pois a incubação demorada resseca comfacilidade o meio contido em placas.

ÁGAR SABOURAUD

PRINCÍPIO

- Meio com nutrientes que favorece o crescimento de diversos fungos leve duriformes efilamentosos.

UTILIDADE

Mod IV - **21**

- Cultivo e crescimento de espécies de *Candidas* e fungos filamentosos, particularmenteassociados a infecções superficiais.
- Caracterização macroscópica do fungo filamentoso (colônia gigante).

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Sabouraud Dextrose Ágar.

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Esterilizar em autoclave;
- Resfriar à +/- 50ºC e distribuir em placas de 90 mm de diâmetro ou 4 ml por tubo;
- Se distribuir em tubos, deixar solidificar com inclinação em forma de bico de flauta (ângulode 45º).

□ pH: 5,6 +/- 0,1

CONTROLE DE QUALIDADE

- Crescimento bom a excelente: *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* ATCC16404.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar embalado de 4 a 8°C por até 6 meses.

INOCULAÇÃO

- Inocular sempre dois tubos ou placas;
- Se em placa: semear com a técnica de semeadura quantitativa;
- Se em tubo: semear na superfície inclinada do meio;
- Incubar um dos meios semeados em temperatura ambiente e o outro à 37ºC;
- Observar diariamente a presença ou não de crescimento;
- Incubar 40 dias.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: amarelo claro opalescente.
- Após o crescimento, deve-se seguir a identificação do microrganismo que cresceu.

RECOMENDAÇÕES

- Recomenda-se o uso de meios em tubos, pois a incubação demorada resseca comfacilidade o meio contido em placas. Não usar meios vencidos e/ou ressecados.
- Para suspeitas de *Histoplamasma capsulatum* e *Paracoccidioides brasiliensis*, semear emBHI ágar. Mod IV - **22**

4. MEIOS COMERCIAIS PARA PROVAS DE IDENTIFICAÇÃO

BASE DE NITROGÊNIO PARA LEVEDURAS – YEAST NITROGEN BASEPRINCÍPIO

Determina a capacidade das leveduras de assimilar carboidratos, utilizando um meio a basede nitrogênio livre de carboidratos e discos de papel impregnados com carboidratos, nos quaisobservase o crescimento ao redor, após um período de incubação.

UTILIDADE

Identificar as espécies de leveduras através da prova de assimilação de carboidratos.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Yeast Nitrogen Base ou Base de nitrogênio para leveduras.
- Discos comerciais de carboidratos.
- Discos preparados no laboratório, impregnados com soluções de carboidratos a 1%:

- Carboidrato 1 g
- Água destilada 100 ml

PROCEDIMENTOS

Para os discos de carboidratos:

- Se for preparar os discos com carboidratos, preparar 2 dias antes de fazer o meio;
- Usar discos estéreis disponíveis para compra ou esterilizar papel de filtro de 10 mm dediâmetro em autoclave;
- Pesar o carboidrato (cada carboidrato em frasco separado) e adicionar água, homogeneizarbem até completa dissolução - carboidratos utilizados: glicose, maltose, sacarose, lactose,galactose, melibiose, celobiose, inositol, xilose, rafinose, trealose, dulcitol;
- Esterilizar por filtração (cada um em frasco separado);
- Impregnar os discos previamente estéreis (embeber totalmente os discos);

- Deixar os discos em estufa à 37ºC até secarem totalmente .

Para o meio base de nitrogênio:

- Pesar e hidratar conforme instruções do fabricante;
- Fundir completamente;
- Distribuir 20 ml por tubo;
- Esterilizar em autoclave.

CONTROLE DE QUALIDADE

CARBOIDRATOS POSITIVO NEGATIVO

Glicose
Maltose
Sacarose
Lactose
Galactose
Melibiose
Celobiose
Inositol
Xilose
Rafinose
Trealose
Dulcitol
Candida albicans
Candida tropicalis
Candida kefyr
Candida albicans
Candida guilliermondii
Cryptococcus neoformans
Candida albicans
Candida krusei

Mod IV - **23**

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Meio base: 4 a 10ºC por 6 meses.
- Discos: refrigerado e se possível em dessecador durante 1 ano ou mais.

INOCULAÇÃO

- Aquecer o tubo contendo 20 ml de meio base de nitrogênio até fundir totalmente;
- Resfriar a base à 47 - 48ºC;
- Fazer uma suspensão das leveduras na escala 4 ou 5 de McFarland em 4 ml de água destilada

estéril, , usando um cultivo de leveduras de 24 a 72 horas;

- Despejar a suspensão de leveduras no tubo contendo a base de nitrogênio;
- Homogeneizar bem;
- Despejar o conteúdo homogeneizado (meio base + suspensão de leveduras) em placa dePetri de estéril de 150 mm de diâmetro;
- Esperar solidificar em temperatura ambiente;
- Colocar os discos impregnados com carboidratos com auxílio de uma pinça flambada;
- Incubar à 30ºC durante 18 a 24 horas.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: amarelo palha.
- Positivo: halo de crescimento ligeiramente opaco ao redor dos discos, que significa aassimilação do açúcar pela levedura.
- Negativo: Ausência de halo de crescimento. O meio permanece inalterado.

RECOMENDAÇÕES

- Não usar cultivos de leveduras superiores a 72 horas;
- Não usar inóculo inferior ao recomendado, pois pode resultar em prova falso - negativa;
- Não adicionar a suspensão de leveduras à base com temperatura superior a 48ºC, poispode inativar as células e resultar em prova falso - negativa;
- Após homogeneizar o meio base e suspensão de leveduras, despejar imediatamente naplaca de Petri, pois solidifica rapidamente.

ÁGAR CITRATO SIMMONS

PRINCÍPIO

- Verifica a capacidade da bactéria de utilizar o citrato de sódio como única fonte de carbono,juntamente com sais de amônia, alcalinizando o meio.

UTILIDADE

- Diferenciar gêneros e espécies de enterobactérias e não fermentadores.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Citrato Simmons.

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio segundo instruções do fabricante;
- Ajustar o pH para 6,9 ±0,2;
- Aquecer sob agitação até fundir o ágar;
- Distribuir em tubos com tampas de rosca;
- Esterilizar em autoclave;
- Retirar os tubos da autoclave e incliná-los ainda quentes, para que solidifiquem com asuperfície em forma de bico de flauta (ângulo de 45°). Deixar solidificar em temperatura ambiente.Mod IV - **24**

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883.
- Negativo: *Escherichia coli* ATCC 25922.

INOCULAÇÃO

- Com o auxílio de um fio bacteriológico, inocular na superfície a colônia, não furar a base;
- Realizar o teste com colônias puras de 18 a 24 horas.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: verde
- Positivo: cor azul ou crescimento no local do inóculo.
- Negativo: não há crescimento e a cor permanece inalterada.
- Se houver crescimento visual na área do inóculo sem mudança de cor, o teste pode ser considerado positivo, reincubar por 24 até 72 horas, a incubação poderá mudar a cor do meiopara alcalino (azul).

Leitura inicial com 24 horas:

- Se resultado positivo: encerrar o teste.
- Se resultado negativo ou houver dúvida: reincubar por mais 24/48 horas.

Leitura com 48 horas:

- Se houver crescimento visível na área do inóculo sem mudança de cor, o teste pode serconsiderado positivo, (encerrar o teste).
- Se resultado negativo ou houver dúvida, reincubar por 24 até 72 horas, a incubação poderámudar a cor do meio para alcalino(azul).

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar de 4 a 10°C de 6 a 8 semanas;
- Após este período realizar controles negativo e positivo semanalmente.

RECOMENDAÇÕES

- Manter a tampa do tubo frouxa, o meio necessita de oxigênio.
- Não se devem transportar colônias de meios que contenham glicose ou outros nutrientes/substratos, pois podem entrar em contato com o meio de citrato, podendo dar umresultado falso positivo.
- Se algum resultado estiver duvidoso, inocular um novo tubo e incubar em temperaturaambiente (22 a 25°C) por até 7 dias.
- Não usar repiques de caldo.
- Deixar o tubo em temperatura ambiente antes de inocular a bactéria.
- Para fazer o inóculo flambar o fio bacteriológico.
- Não fazer inóculo muito denso (pode acidificar o meio deixando-o amarelo).

ÁGAR BÍLIS-ESCULINA

PRINCÍPIO

- A prova de Bile-Esculina é baseada na capacidade de algumas bactérias hidrolisaremesculina em presença de bílis. A esculina é um derivado glicosídico da cumarina. As duas moléculas docomposto (glicose e 7-hidroxicumarina) estão unidas por uma ligação éster através do oxigênio.

Aa esculina é incorporada em um meio contendo 4% de sais biliares.

- As bactérias Bile-Esculina POSITIVAS, são capazes de crescer em presença de saisbiliares. A hidrólise da esculina no meio resulta na formação de glicose e esculetina. A esculetina reagecom íons férricos (fornecidos pelo composto inorgânico do meio - o citrato férrico), formando umcomplexo negro.

UTILIDADE

- Separação dos *Streptococcus* Bile-Esculina positiva dos Bile-Esculina negativa.
- Identificação dos *Enterococcus* spp., que são Bile-Esculina positiva.
- Identificação de bacilos Gram negativos não fermentadores e enterobactérias, usar o meiosem bílis (vide prova de esculina).

FÓRMULA/ PRODUTO

- Meio comercial: Ágar Bílis-Esculina

Fórmula: Peptona 5 g
Extrato de carne 3 gBílis
40 g
Esculina 1 g

Citrato férrico 0,5 g
Ágar 15 g
Água destilada 1000 mlpH =
7,0 **PROCEDIMENTOS**

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Fundir o meio; Distribuir 2,5 ml por tubo;
- Esterilizar em autoclave;
- Após retirar da autoclave, inclinar os tubos ainda quentes para que solidifiquem com asuperfície em forma de "bico de flauta" (ângulo de 45º).

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
- Negativo: *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar de 4 a 10°C por 4 meses.

INOCULAÇÃO

- Estriar a superfície inclinada do meio;
- Incubar a 35ºC 24 horas.

INTERPRETAÇÃO

Cor original do meio: acinzentado

- Positivo: Enegrecimento em pelo menos metade ou mais do meio.
- Negativo: Ausência de enegrecimento ou crescimento de menos da metade do meio após72 horas de incubação.

RECOMENDAÇÕES

- Provas negativas com 24 horas de incubação, recomenda-se período de incubação maior(48 horas).
- Alguns *Streptococcus do grupo viridans* (cerca de 3%) podem hidrolizar a esculina empresença de bílis se incubados em atmosfera de CO_2.

ÁGAR SANGUE - CAMP

Mod IV - **26**

PRINCÍPIO

- Consiste na interação da beta hemólise secretada pelo *Staphylococcus aureus* com o microrganismo em estudo, que secreta uma proteína, denominada "fator CAMP", produzindo

aumento de hemólise no local da inoculação.

UTILIDADE

- Separação do *Streptococcus* beta hemolítico presumível do grupo B de Lancefield *(S.agalactiae*) e da *Listeria monocytogenes* (CAMP positivos) dos demais *Streptococcus* beta hemolíticos eespécies de *Listeria.*

FÓRMULA/ PRODUTO

Para esta prova utiliza-se:

- Placa de meio Ágar Sangue.
- Cepa de *Staphylococcus aureus* produtora de beta hemolisina ATCC 25923.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo: *Streptococcus agalactiae* ATCC 13813.
- Negativo: *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

INOCULAÇÃO

- Com auxílio do fio bacteriológico, semear na superfície de meio Ágar Sangue a cepa de *Staphylococcus aureus* com uma única linha reta;
- Novamente com o fio bacteriológico (flambado), tocar nas colônias em estudo;
- Semear uma única linha reta na superfície do meio Ágar Sangue, perpendicularmente àlinha de semeadura do *S. aureus*, sem tocar no inóculo do *S. aureus*;
- Logo em seguida, sem flambar o fio, picar o meio Ágar Sangue duas vezes, uma de cadalado da semeadura da cepa em estudo, sem tocar nas duas linhas de inóculo já feitos (a do *S. aureus* e da cepa em estudo);
- Incubar à 35ºC 24 horas.

(a) Inóculo do *S. aureus*

(b) Inóculo da cepa em estudo

INTERPRETAÇÃO

- Positivo: Aumento da área de hemólise em forma de flecha no local onde estão maispróximas as duas estrias de crescimento.

 Negativo: Ausência de aumento da hemólise. Observa-se nitidamente a hemólise do *S.aureus* e da cepa em estudo, inalteradas.

RECOMENDAÇÃO

 Não utilizar cepas velhas de *S. aureus*, pois podem não produzir beta hemolisina.

 Não tocar as estrias da semeadura das cepas, para não dar um resultado falso – negativo.

 Não utilizar placas de Ágar Sangue velhas que dificultem a leitura da prova, já que ébaseada na hemólise das cepas.

CALDO BASE DE MOELLER

PRINCÍPIO

 As descarboxilases são um grupo de enzimas com substrato específico, capazes de reagircom o grupo carboxila dos aminoácidos para formarem aminas alcalinas. Essa reação, conhecidacomo descarboxilação, origina dióxido de carbono como produto secundário.

 Emprega-se normalmente três aminoácidos para identificação dos microrganismos: lisina,ornitina e arginina. A base de Moeller é a mais utilizada. Os produtos aminados específicos, são:Mod IV - **27**

- Lisina: Cadaverina;
- Ornitina: Putrescina;
- Arginina: Citrulina.

A conversão da arginina em citrulina é uma atividade de diidrolase, e não descarboxilase, naqual o grupo NH2 é retirado da arginina como primeira etapa. Em seguida, a citrulina é convertida em ornitina, que sofre descarboxilação para formar putrescina. A incubação deveser em anaerobiose e para isso, é adicionado 1 ml de óleo mineral estéril após a
inoculação. No início da incubação, a glicose contida no meio é fermentada e ocorre viragemde cor púrpura para o amarelo. Quando o aminoácido é descarboxilado, as aminas alcalinasformadas revertem a cor do meio para púrpura original.

UTILIDADE

 Verificar a capacidade de microrganismos usarem enzimas, auxiliando na identificação.

 Utilizado principalmente para identificações de enterobactérias, bacilos Gram negativos não

fermentadores, estafilococos.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio base comercial: Caldo Base de Moeller para Descarboxilase.
- Aminoácidos: L lisina ou DL lisina, L ornitina ou DL ornitina, L arginina ou DL arginina.

PROCEDIMENTOS

- Preparar os meios com a Base de Moeller e aminoácidos;
- Preparar o meio apenas com a Base de Moeller, sem aminoácidos, que será usada comocontrole;
- Seguir as recomendações do fabricante para pesar o meio Base de Moeller;
- Se usar aminoácido **L** (*levógiro*), adicionar **1 grama** do aminoácido para cada 100 ml demeio base;
- Se usar aminoácido **DL** (*dextrógiro*), adicionar **2 gramas** do aminoácido para cada 100 mlde meio base;
- Homogeneizar bem o meio;
- Acertar o pH para 6,0 com HCl 1 *N* ;
- Distribuir 2 ml por tubo (usar tubos de rosca);
- Esterilizar em autoclave.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo:

Lisina: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 ou *Enterobacter aerogenes* ATCC 13047.Ornitina: *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 ou *Serratia marcescens* ATCC 13880.
Arginina: *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 ou *Enterobacter sakazakii*.

- Negativo:

Lisina: *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 ou *Citrobacter freundii* ATCC 8454. Ornitina: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 ou *Citrobacter freundii* ATCC 8454.
Arginina: *Enterobacter aerogenes* ATCC 13047 ou *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar entre 4 a 10 ºC por 3 meses.

INOCULAÇÃO

- A partir de crescimento recente, inocular a colônia em estudo no tubo contendo oaminoácido e no tubo controle;
- Colocar aproximadamente 1 ml de óleo mineral estéril em cada tubo;
- Incubar à 35 +/- 1ºC em aerobiose.

INTERPRETAÇÃO

Mod IV - **28**

- Cor original do meio: púrpura
- Positivo: Tubo controle (sem aminoácido) : amarelo e turvo - indica que o microrganismo éviável e o pH do meio abaixou o suficiente para ativar as enzimas descarboxilase.

Tubo com aminoácido: púrpura e turvo- indica a formação de aminas a partir da reação dedescarboxilação.

- Negativo: Tubos controle e com aminoácido: púrpura.

RECOMENDAÇÕES

- Verificar se o inóculo foi satisfatório para o crescimento, pois a cor original do meio - púrpura, sem apresentar turvação não significa positividade e sim, ausência de crescimentobacteriano.
- Como a reação ocorre em anaerobiose, é imprescindível a adição de óleo mineral.
- Pode-se autoclavar o meio já com o óleo mineral ou adicionar após a inoculação domicrorganismo.
- Para alguns microrganismos, como bacilos Gram negativos não fermentadores, énecessário um período de incubação prolongado (24 a 72 horas).

ÁGAR DNASE

PRINCÍPIO

- Cepas de alguns microrganismos produzem DNase e endonuclease termoestável. Estasenzimas hidrolisam ácido desoxirribonucléico (DNA) contido no meio de cultura após um período de incubação. Posteriormente este meio é acidificado com HCl 1*N* para a revelação da prova.

UTILIDADE

Prova de identificação que separa os principais microrganismos de importância clínica, entreeles:

- DNase positivos: *Staphylococcus aureus , Serratia* spp. e *Proteus* spp.*, Stenotrophomonasmaltophilia, Cryseobacterium meningosepticum, Moraxella catarrhalis*.
- DNase negativos: *Staphylococcus* coagulase negativa, demais enterobactérias, demaisbacilos Gram negativos não fermentadores.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: DNase Ágar.

PROCEDIMENTOS

Pode-se revelar a prova de duas maneiras:

- Com uma solução de ácido clorídrico 1 *N*
- Adicionando à base do meio de cultura azul de Toluidina O.

- **Para a revelação com ácido clorídrico 1*N*:**

Preparar e esterilizar o meio conforme instruções do fabricante;Esfriar o meio à aproximadamente 50ºC;

Distribuir em placas de petri de 50 mm de diâmetro. Preparar uma solução de HCl 1*N*, seguindo a fórmula abaixo:

N= C1 (número de equivalentes grama de soluto)V (volume da solução)

Mod IV - **29**

C1 = M1 (peso molecular do soluto)E (volume da solução)

E = M

x → x: para bases: OH desprendido na reaçãopara ácidos: H+ ionizáveis

para oxidantes / redutores: variação do NOX para sais normais: valência do cátion ou ânion

- **Para a revelação com azul de Toluidina O:**

Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante; Acrescentar para cada 1000 ml de base 0,1g de azul de Toluidina O;Esterilizar em autoclave;

Esfriar o meio à aproximadamente 50ºC;

Distribuir em placas de petri de 50 mm de diâmetro.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ou *Serratia marcescens* ATCC 13880.
- Negativo: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ou *Escherichia coli* ATCC 25922.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Meio: 4 a 10 ºC por 3 meses.
- Ácido Clorídrico 1*N*:

Guardar em frasco âmbar, em temperatura ambiente, ao abrigo de luz, calor e umidade.Validade: 6 meses.

INOCULAÇÃO

Para as duas técnicas de preparação, a inoculação é a mesma:

- Com auxílio de um fio bacteriológico, tocar nas colônias em estudo e fazer um esfregaçocircular e denso na placa de DNase ;
- Incubar à 35 +/- 1ºC 24 horas.

INTERPRETAÇÃO

Revelação com HCl 1 *N:*

- Cor original do meio: amarelo claro
- Colocar sobre o crescimento bacteriano HCl 1 *N* até banhar totalmente a superfície do meio;
- Aguardar aproximadamente 3 minutos ou até que o meio fique opaco.
- Positivo: Presença nítida de halo claro na parte inferior e em volta da colônia.
- Negativo: Ausência de halo claro em volta da colônia.

revelação com azul de toluidina o:

- Cor original do meio: azul claro
- Positivo: Presença de coloração rosa na parte inferior e em volta da colônia.
- Negativo: Ausência de cor rosa. O meio permanece com a cor original, azul.

RECOMENDAÇÕES

- Usar sempre uma cepa controle positivo para facilitar a leitura da prova;
- Em uma mesma placa, pode-se fazer até 4 testes (placas de 50 mm de diâmetro);
- armazenamento incorreto e uso com validade vencida do HCl 1 *N* pode dar leituras falsonegativas;
- Para a detecção da atividade de DNase não é necessário que haja crescimento, por isso éque a semeadura deve ser de forma circular densa e não de estria;Mod IV - **30**
- Para o meio preparado com Azul de Toluidina O, algumas cepas requerem um períodomaior de incubação (até 48 horas) para produzirem DNase;
- Usar cultura jovem (até 24 horas).

ÁGAR ESCULINA

PRINCÍPIO

- Verifica se a bactéria é capaz de hidrolisar a esculina.
- A esculetina exige sais de ferro formando precipitado marrom escuro ou preto.

UTILIDADE

- Diferenciar gêneros e espécies de enterobactérias e não fermentadores;
- Para identificação de *Streptococcus* e *Enterococcus*, usar o meio com bílis, vide prova deBile-Esculina.

FÓRMULA /PRODUTO

- Ágar tríptico de soja (TSA) ou base de ágar sangue 4 g
- Citrato férrico 0,05 g
- Esculina 0,1 g
- Água destilada 100 ml

PROCEDIMENTOS

- Pesar o TSA ou a base de ágar sangue, o citrato férrico e a esculina e colocar tudo nomesmo Erlenmeyer;
- Colocar água destilada;
- Ajustar o pH para 7,0;
- Aquecer lentamente até fundir o ágar e dissolver o citrato férrico (lentamente porque ocitrato férrico demora a dissolver);
- Distribuir 3 ml do meio em tubos com tampa de rosca;
- Esterilizar em autoclave;
- Retirar os tubos da autoclave e incliná-los ainda quentes para que solidifiquem com asuperfície em forma de bico de flauta (ângulo de 45°). Deixar solidificar em temperatura ambiente.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883.
- Negativo: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

INOCULAÇÃO

- Inocular colônias de crescimento recente (18 – 24 hs);
- Picar o meio e semear na superfície do ágar;
- Incubar a 35 °C por 24 horas.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: palha.
- Positivo: marrom escuro ou preto.
- Negativo: inalterado (palha).

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar de 4 a 8°C, de 6 a 8 semanas.
- Após este período realizar controle negativo e positivo semanalmente.

RECOMENDAÇÕES

Mod IV - **31**

- A enzima glicosidase é responsável pela hidrólise da esculina em todas as enterobactériasexceto a *Escherichia coli*. A *Escherichia coli* não possue a enzima glicosidase sendo necessário usara lactose, outro dissacarídeo ou outra fonte de carbono. Fazer um inóculo leve com agulhabacteriológica e interpretar após 18-24 horas.
- A produção de piocina pela *Pseudomonas aeruginosa* pode escurecer o meio, isso não éuma

reação positiva. Resultado falso positivo pode ocorrer pela produção de H^2S em nãofermentadores, semelhante ao bacilo da bactéria *Shewanella putrefaciens*.

ÁGAR FENILALANINA

PRINCÍPIO

- Verifica a capacidade da bactéria de produzir ácido fenilpirúvico a partir da fenilalanina poração enzimática.

UTILIDADE

- Diferenciar gêneros e espécies de enterobactérias.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Ágar Fenilalanina

Solução de cloreto férrico:

Cloreto férrico 10 g
Adicionar 100 ml de água destilada
Colocar em frasco âmbar.

Validade: 6 meses

A solução de cloreto férrico 10% é utilizada para revelar a atividade da enzima fenilalaninadesaminase no meio de fenilalanina.

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Aquecer sob constante agitação até fundir o meio;
- Ajustar o pH para 7,3 ±0,2;
- Distribuir em tubos com tampas de rosca; Esterilizar em autoclave;
- Retirar os tubos da autoclave e incliná-los ainda quentes para que solidifiquem com asuperfície

em forma de bico de flauta (ângulo 45°). Deixar solidificar em temperatura ambiente.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo*: Proteus vulgaris* ATCC 8427 ou *Proteus mirabilis* ATCC 12453.
- Negativo: *Escherichia coli* ATCC 25922.

INOCULAÇÃO

- Fazer um inóculo denso;
- Inocular colônia pura de 18 a 24 horas;
- Incubar a 35°C por 18 a 24 horas.

INTERPRETAÇÃO

Adicionar diretamente o cloreto férrico no tubo inoculado, antes da interpretação do resultadoe distribuir o reagente sobre a superfície do meio.

- Cor original do meio: amarelo palha.

- Positivo: formação de uma coloração esverdeada na superfície do meio após a adição docloreto férrico.
- Negativo: o meio permanece inalterado.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar de 4 a 8°C, de seis a oito semanas.

RECOMENDAÇÕES

- Um resultado positivo deve ser interpretado imediatamente após a adição do reagente, poisa cor verde desbota rapidamente. A interpretação deve ser feita em até 5 minutos.

CTA – CYSTINE TRYTICASE AGAR

PRINCÍPIO

- CTA é um meio semi-sólido, recomendado para o estudo de fermentação de carboidratosde microrganismos exigentes.

UTILIDADE

- Usado para diferenciar espécies de *Haemophilus* spp., *Neisseria* spp., *Branhamellacatarrhalis* e *Corynebacterium* spp.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial Cystine Tryticase agar Medium.
- Carboidratos mais utilizados: glicose, maltose, lactose, sacarose, frutose, mannose.Carboidrato 10 g Água destilada 100 mlpH:
7,3 +/- 0,2

PROCEDIMENTOS

- Esterilizar os carboidratos, separadamente, por filtração e reservar;
- Pesar o CTA conforme instruções do fabricante, acrescentar 900 ml de água ehomogeneizar bem;
- Esterilizar em autoclave;
- Esfriar a base a aproximadamente 50ºC;
- Adicionar o carboidrato esterilizado por filtração;
- Distribuir em 3 ml por tubo;
- Deixar os tubos esfriar na posição vertical.

CONTROLE DE QUALIDADE

POSITIVO NEGATIVO
Glicose
Maltose
Lactose
Sacarose
Frutose
Manose
Neisseria sicca
Neisseria lactamica
Neisseria sicca
Haemophilus parainfluenzae
Branhamella catarrhalis
Neisseria sicca
Branhamella catarrhalis
Haemophilus influenzae

CONSERVAÇÃO E VALIDADE
- Temperatura ambiente por 3 meses.

Mod IV - **33**

INOCULAÇÃO
- Fazer um inóculo bem denso, no centro do meio;
- Incubar à 35ºC em jarra com vela acesa e gaze embebida em água de torneira para manter a umidade da atmosfera.

INTERPRETAÇÃO
- Cor original do meio: alaranjado
- Positivo: cor amarela, indicando acidificação (fermentação) do meio e turvação.
- Negativo: Ausência de crescimento. O meio permanece com a cor original, alaranjado, e sem turvação.

RECOMENDAÇÕES
- Para provas negativas, incubar um período maior (72 horas);
- Não autoclavar a base com o carboidrato, pois a alta temperatura pode degradar o carboidrato;
- Fazer inóculo denso, pois inóculos fracos podem dar resultado falso negativo.

CALDO TRIPTONA E SIM

PRINCÍPIO

- Determinam a habilidade do microrganismo de metabolizar o triptofano em indol. Triptofanoé um aminoácido que pode ser oxidado por certas bactérias resultando na produção de indol,após a adição de reagentes de Erlich ou Kovacs.

UTILIDADE

- Diferenciar gêneros e espécies de enterobactérias, não fermentadores, *Haemophilus* eanaeróbios.

FÓRMULA /PRODUTO

- Meio comercial: Caldo Triptona.
- Meio comercial: SIM (sulfato/indol/motilidade ágar).

Reativo Erlich

Paradimetilaminobenzaldeído 1 g
Álcool etílico (95%) 95 ml
Ácido clorídrico concentrado 20 ml

- Guardar em frasco âmbar em temperatura ambiente (22-25°C).
- Cor original do reativo de Erlich: amarelo Ou **Reativo de Kovacs** (pode ser adquirido comercialmente pronto para uso) ou ser preparado no laboratório: Álcool isoamílico 150 mlParadimetilaminobenzaldeído 10,0 g Ácido clorídrico concentrado 50 ml
- Dissolver o aldeído em álcool e adicionar lentamente o ácido clorídrico;
- Guardar em frasco âmbar e no refrigerador quando não estiver em uso.

Obs: Não conservar em temperatura ambiente por longo período a cor pode ser alterada deamarelo palha para marrom, perdendo assim a sensibilidade.

Xilol : pode ser adquirido comercialmente pronto para uso.Mod IV - **34**

PROCEDIMENTOS

Meio Caldo Triptona

- Pesar e hidratar conforme instruções do fabricante;
- Aquecer sob agitação, até fundir o meio;
- Distribuir aproximadamente 3,0 ml em tubos com tampas de rosca;
- Esterilizar em autoclave;
- Retirar os tubos da autoclave;

- Deixar esfriar em temperatura ambiente na posição vertical.

Meio SIM

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Aquecer sob agitação, até fundir o meio;
- Distribuir aproximadamente 3,0 ml em tubos com tampas de rosca;
- Esterilizar em autoclave;
- Retirar os tubos da autoclave;
- Deixar solidificar em temperatura ambiente na posição vertical.

CONTROLE DE QUALIDADE

Controle qualidade para meio Caldo Triptona:

- Positivo: *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Negativo: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Controle qualidade para meio SIM:

Microrganismo H2S INDOL MOTILIDADE

Proteus vulgaris + + + *Shigella*
sonnei neg neg neg*Escherichia*
coli neg + +

Proteus vulgaris ATCC 13315, *Shigella sonnei* ATCC 25931, *Escherichia coli* ATCC 25922

INOCULAÇÃO

Meio Caldo Triptona

- Fazer um inóculo leve com colônia pura de cultura de 18-24 horas (para enterobactérias,bacilos Gram negativos não fermentadores ou anaeróbios);
- Fazer um inóculo denso com colônia pura de cultura de 18-24 horas (para *Haemophilus*);
- Incubar a 35°C por 24 horas (enterobactérias) ou até 48 horas (bacilos Gram negativos nãofermentadores ou anaeróbios) em aerobiose ou anaerobiose, respectivamente.

Meio SIM

- Com o auxílio da agulha, inocular uma colônia no meio na posição vertical, lentamente até abase;
- Afastar a agulha seguindo a linha inicial do inóculo;
- Incubar a 35°C por 18-24 horas.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio:
- Após incubação, revelar com reagente de Ehrlich ou Kovacs.
- A escolha entre os reagentes de Ehrlich ou Kovacs depende da preferência dos Gramnegativos não fermentadores ou anaeróbios, que podem produzir mínima quantidade de indol.

Revelação com reativo de Ehrlich ou Kovacs no meio de Caldo Triptona

- Colocar 1mL de xilol no tubo com crescimento bacteriano, **homogeneizar vigorosamente** eaguardar 1 minuto;
- Adicionar pela parede do tubo 0,5 ml do reativo de Erlich e realizar a leitura.Mod IV - **35**

Indol positivo: aparecerá um anel vermelho logo abaixo da camada de xilol. Indol negativo: permanecerá um anel amarelo logo abaixo da camada de xilol.**Revelação com reativo de Kovacs no meio SIM**

- **Realizar a leitura da motilidade e do H^2S**.
- Em seguida adicionar 5 gotas do reativo de Kovacs pela parede do tubo no meio contendo ocrescimento bacteriano.
- **Agitar o tubo suavemente** e proceder a leitura do indol.

Motilidade positiva: microrganismos móveis migram pela linha do inóculo e difundem-se nomeio causando turbidez.

Motilidade negativa: bactéria tem um crescimento acentuado ao longo da linha do inóculo, emvolta continua límpido.

H^2S positivo: ao longo da linha de inoculação aparecerá a cor negra.H^2S negativo: linha ao longo da inoculação inalterada.

Indol positivo aparecerá um anel vermelho. Indol for negativo aparecerá um anel amarelo.**CONSERVAÇÃO E VALIDADE**

- Caldo Triptona: 6 meses se conservado de 2 a 8°C.
- Meio SIM: 6 meses se conservado de 2 a 8°C em tubos com tampas de rosca, tubos comtampão de algodão o meio pode ressecar antes deste prazo.

RECOMENDAÇÕES

- Um ótimo pH para triptofanase é levemente alcalino (pH 7,4-7,8), um pH ácido pode baixara produção do indol indicando um resultado falso negativo ou positivo fraco.
- Cultura para ser testada produção de indol deve ser incubada em aerobiose, a baixa tensãode oxigênio baixa a produção de indol.
- Indol positivo se perde após 96 horas de incubação.
- Alguns microrganismos formam indol, mas se quebram ou baixam rapidamente a produção,

podendo ocorrer um resultado falso negativo. Ocorre principalmente entre algumas espéciesde *Clostridium* spp.

- Pequenas modificações podem ser necessárias para testar a produção de indol em não fermentadores (fracos produtores de indol), como a utilização de um meio enriquecido, como omeio BHI enriquecido com 2% de soro de coelho ou isovitalex, extração com xilol e revelação com reagente de Ehrlich.
- Na extração de indol com o reagente xilol, colocar pequena quantidade de xilol para evitar adiluição do indol tornando-o fraco positivo ou negativo.
- Algumas cepas de *Cardiobacterium hominis*, *Kingella* spp., *Sutonella indologenes*, *Eikenella corrodens*, necessitam de inóculo denso no caldo de triptona, incubação de 48 horas, extraçãocom xilol e revelação com reagente de Ehrlich.

CALDO MALONATO

PRINCÍPIO

- Determina a habilidade do microrganismo de utilizar malonato de sódio como única fonte decarbono, resultando em alcalinização do meio.

UTILIDADE

- Diferenciar gêneros e espécies de enterobactérias e não fermentadores.Mod IV - **36**

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Caldo Malonato.

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Ajustar o pH 6,7 ± 0,2;
- Distribuir 1,5 ml em tubos com tampa de rosca;
- Esterilizar em autoclave;
- Retirar os tubos da autoclave e deixar esfriar em temperatura ambiente.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883.
- Negativo: *Escherichia coli* ATCC 25922.

INOCULAÇÃO

- Inocular colônias puras de 18 a 24 horas;
- Inóculo leve;
- Incubar a 35°C de 24-48 horas, observando o cultivo diariamente.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: verde.
- Positivo: azul.
- Negativo: inalterado (verde).

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar de 4 a 10°C de 6 a 8 semanas.
- Após este período realizar controle positivo e negativo semanalmente.

RECOMENDAÇÕES

- Alguns resultados negativos produzem cor amarela, isso porque a fermentação da glicoseaumenta a acidez.
- Alguns microrganismos malonato positivo produzem uma fraca alcalinização, dificultando ainterpretação. Se o resultado for duvidoso incubar um tubo sem inóculo para comparação, junto com o teste em questão, se não aparecer nenhum traço azul, incubar por mais 24 horas,liberando o resultado negativo após incubação de 48 horas.
- Cuidado ao interpretar resultados após incubação prolongada. Cor azul fraco (azulesverdeado) pode parecer uma reação fraca positivo podendo ser ignorado.

CALDO NITRATO

PRINCÍPIO

- Determina a habilidade do microrganismo de reduzir o nitrato (NO^3) a nitrito (NO^2) ou gásnitrogênio (N^2) (denitrificação).

UTILIDADE

- Diferenciar gêneros e espécies de enterobactérias, não fermentadores, anaeróbios, *Haemophilus*, *Neisseria* e *Mycobacterium*.

FÓRMULA /PRODUTO

- Meio comercial: Caldo Nitrato.
- Reagentes para revelação da reação.

Solução A

Ácido sulfanílico 0,8 g Ácido acético 5N 100 ml**Solução B**

N,N-dimetil-l-naftilamina 0,6 gÁcido acético 5N* 100 ml

* Ácido acético 5N

Ácido acético glacial 40 mlÁgua
destilada 100 ml

Zinco em pó (pronto para uso)

PROCEDIMENTOS

Caldo nitrato

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Acertar o pH 7,0;
- Distribuir 3 ml do meio em cada tubo, contendo um tubo de Durhan invertido;
- Esterilizar em autoclave;
- Deixar o tubo esfriar na posição vertical

Reagentes para revelação da reação.

- **Solução A**

Dissolver o ácido sulfanílico em uma parte do ácido e depois completar com o restante doácido acético q.s.p. 100 ml.

- **Solução B**

Dissolver o N,N-dimetil-l-naftilamina com uma parte do ácido e completar o restante do ácidoacético q.s.p. 100 ml.

CONTROLE DE QUALIDADE

Resultado Cepa Resultado esperado

Nitrato reduzido a nitrito Enterobactérias Coloração vermelha Nitrato a gás
Pseudomonas aeruginosa Bolhas no tubo de Durhan
Nitrato não reduzido *Acinetobacter baumannii* Coloração vermelha somenteapós adição de
pó de zinco
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, *Acinetobacter baumannii* ATCC

INOCULAÇÃO

- Fazer um inóculo denso, com colônias recentes (18 – 24 horas) no meio com alçabacteriológica;
- Não agitar o tubo após inoculação;
- Incubar 35±1°C por 24 a 48 horas, sendo necessário algumas vezes até 5 dias;
- Verificar se existe crescimento aparente no meio antes de colocar os reagentes para revelara

reação; Verificar a presença de bolhas dentro do tubo de Durhan.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: incolor a palha.
- Verificar se há bolhas de gás dentro do tubo de Durhan, se houver significa que a bactériareduziu

nitrato a gás = denitrificação.

- Adicionar 5 gotas dos reagentes A e B no meio, sem homogeneizar. Se houver desenvolvimento de cor vermelho tijolo significa que a bactéria reduziu nitrato a nitrito.
- Se após a adição dos reagentes A e B o tubo continuar incolor, adicionar uma pitada de póde zinco no tubo, se houver desenvolvimento de cor vermelho tijolo significa que a bactéria nãoreduziu nitrato a nitrito e o nitrato ainda permanece no meio.

Mod IV - **38**

- **IMPORTANTE**: algumas bactérias não conseguem reduzir nitrato a nitrito e só conseguemreduzir nitrito, como por exemplo *alcaligenes faecalis* e *oligella uretralis*, havendo a necessidade deutilizar o caldo nitrito para este fim.

RESULTADO REAGENTES A e B PÓ DE ZINCO GÁS NO TUBO DE DURHAN

reduziu + não houve reação não houve reaçãonitrato a
nitrito
não reduziu neg pos neg
nitrato a
nitrito
nitrato neg neg +
reduzido
a gás

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Caldo nitrato: conservar o meio de 4 a 8°C por até 6 meses.
- Soluções A e B: guardar em frasco escuro na geladeira (4 a 8°C) por até 12 meses.
- Ácido acético 5N: Conservar de 4 a 8°C por até 12 meses.

RECOMENDAÇÕES

- Utilizar o tubo de nitrato sem inocular como controle negativo, para evitar resultado falsopositivo, devido à alta sensibilidade do teste.
- Quando for adicionado o pó de zinco, não colocar em excesso, pode resultar em falsonegativo (incolor).

MEIO BASE PARA OXIDAÇÃO E FERMENTAÇÃO - OFPRINCÍPIO

- Verificar a capacidade do microrganismo em utilizar os carboidratos pela via oxidativa ou

fermentativa.

UTILIDADE

- Diferenciar bacilos Gram negativos quanto ao tipo de metabolismo empregado em utilizarcarboidratos.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Meio base de OF
- Carboidratos (dextrose ou glicose, lactose, sacarose, xilose, maltose, manitol etc).
- Vaselina líquida estéril.

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Aquecer o meio até dissolver todo o ágar;
- Separar volumes iguais em diferentes Beckers, dependendo do número de carboidratos queserão preparados;
- Adicionar 1g do carboidrato para cada 100 ml de meio base e homogeneizar;
- Distribuir 2 ml em tubos com tampa de rosca;
- Esterilizar em vapor fluente por 20 minutos (deixar a válvula de pressão da autoclave abertae, quando estiver saindo bastante vapor, começar marcar o tempo. Vapor fluente só pode serfeito

Mod IV - **39**

em autoclave com tampas reguláveis para saída de vapor. Autoclaves horizontais nãopossuem controle de saída de vapor, são automáticas);

- Pode-se também esterilizar a base e adicionar os açúcares esterilizados por filtração emfiltros Millipore 0,45 µm (90 ml de base autoclavada e 10 ml de açúcar (esterilizado por filtração);
- Deixar esfriar a temperatura ambiente na posição vertical.

CONTROLE DE QUALIDADE

Resultado Cepa Resultado esperado

OF-GLICOSE Oxidador *Pseudomonas aeruginosa* A-amarelo, F-inalteradoFermentador *Klebsiella pneumoniae* A/F- amarelo

Inalterado Alcaligenes faecalis* A/F- inalterado

OF-FRUTOSE Oxidador *Stenotrophomonas maltophilia* A-amarelo, F-inalteradoFermentador *Klebsiella pneumoniae* A/F- amarelo

Inalterado *Alcaligenes faecalis** A/F-inalterado

OF-LACTOSE Oxidador *Burkolderia cepacia* A-amarelo, F-inalterado

Fermentador *Klebsiella pneumoniae* A/F-amareloInalterado
*Alcaligenes faecalis** A/F- inalterado
OF-MALTOSE Oxidador *Stenotrophomonas maltophilia* A-amarelo, F-inalteradoFermentador *Klebsiella pneumoniae* A/F-amarelo
Inalterado *Alcaligenes faecalis** A/F- inalterado
OF-MANITOL Oxidador *Burkolderia cepacia* A-amarelo, F-inalteradoFermentador *Klebsiella pneumoniae* A/F-amarelo
Inalterado *Alcaligenes faecalis** A/F- inalterado
OF-SACAROSE Oxidador *Stenotrophomonas maltophilia* A-amarelo, F-inalterado Fermentador *Klebsiella pneumoniae* A/F- amarelo Inalterado *Alcaligenes faecalis** A/F-inalterado
OF-XILOSE Oxidador *Burkolderia cepacia* A-amarelo, F-inalterado
Fermentador *Klebsiella pneumoniae* A/F-amarelo Inalterado *Alcaligenes faecalis** A/F-inalterado
A= tubo aberto; F= tubo fechado com vaselina líquida *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145,*Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 Alcaligenes faecalis ATCC 8750 ou *Moraxella catarrhalis* ATCC 25238

INOCULAÇÃO

- Inocular densamente até o fundo do tubo com a agulha bacteriológica, colôniasprovenientes de uma placa de crescimento de 18 a 24 hs.;
- Inocular dois tubos, em um dos tubos acrescentar 1,0 ml de vaselina líquida estéril, no outrotubo não colocar vaselina;
- Incubar á temperatura de 35°C por 48 horas ou mais;
- Se resultado negativo, pode ser necessário até 4 dias, excepcionalmente 14 dias,observando diariamente.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: verde
- Oxidador: tubo aberto - desenvolvimento de cor amarelatubo fechado - inalterado (verde)
- Fermentador: tubo aberto e fechado - desenvolvimento de cor amarela
- Assacarolítico: tubo aberto e fechado - inalterado (verde)

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar de 4 a 8°C por até 6 meses.

RECOMENDAÇÕES

- Sempre antes de interpretar a reação verificar se há crescimento nos tubos, porquealgumas bactérias não crescem no meio OF, sendo necessário enriquecimento do meio, acrescentando2 % de soro de coelho ou cavalo.
- Importante deixar tampa frouxa no tubo aberto.Mod IV -

40

ÁGAR TSI – TRIPLO AÇÚCAR FERRO

PRINCÍPIO

- Este meio contém três açúcares: 0,1%glicose, 1,0% lactose, 1,0% sacarose, vermelho defenol para detecção da fermentação de carboidratos e sulfato de ferro para detecção da produçãode sulfato de hidrogênio (indicado pela cor preta na base do tubo).
- A fermentação é indicada pela mudança da cor do indicador de pH de vermelho paraamarelo. O ágar fundido é deixado solidificar, formando uma superfície inclinada.
- Essa configuração origina duas câmaras de reação dentro do mesmo tubo. A porçãoinclinada ou bico, exposta em toda sua superfície ao oxigênio atmosférico, é aeróbia. A porção inferior,denominada profundidade ou fundo, está protegida do ar e é relativamente anaeróbia.
- Quando se prepara o meio, é importante que o bico e a profundidade tenham ocomprimento igual ao redor de 3 cm cada um, de modo que o efeito das duas câmaras seja conservado.

UTILIDADE

- Diferenciar bacilos Gram negativos com base na fermentação de carboidratos, produção desulfato de hidrogênio e gás.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: TSI (tríplice açúcar ferro).

PROCEDIMENTOS

- Pesar o TSI conforme instruções do fabricante;
- Ajustar o pH para 7,3 ±0,2;
- Distribuir em tubos com tampas de rosca;
- Esterilizar em autoclave;

- Retirar os tubos da autoclave e incliná-los ainda quentes para que solidifiquem com asuperfície em forma de bico de flauta (ângulo de 45°).
- Deixar solidificar em temperatura ambiente.

CONTROLE DE QUALIDADE

Microrganismo ATCC Superfície Base H^2S *Escherichia coli*
25922 Ácido Ácido, gás neg *Shigella flexneri* 12022 Alcalino
Ácido neg *Edwardsiella tarda* 15947 Alcalino Ácido +
Pseudomonas aeruginosa 27853 Alcalino Alcalino +

INOCULAÇÃO

- Inocular colônia pura de 18 a 24 horas;
- Semear por picada até o fundo e na superfície do meio;
- Incubar 24 hs a 35°C, com a tampa semi aberta.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: vermelho laranja, levemente opalescente.
- Leitura: entre 18 e 24hs.
- Cor púrpura = alcalino.
- Cor amarelo = ácido.

Reações ápice/base:

- Púrpura/amarelo = fermentação apenas da glicose (lactose e sacarose negativos).
- Amarelo/amarelo = fermentação da glicose + lactose e/ou sacarose (2 ou 3 açucares).
- Presença de gás (CO^2) = bolhas ou meio fragmentado.
- H^2S positivo = presença de precipitado negro.

ÁPICE BASE H^2S GÁS INTERPRETAÇÃO MAIS PROVÁVEL

Vermelho Vermelho neg neg Sem crescimento = bactéria exigente
Vermelho Vermelho neg neg Crescimento na superfície = Não fermentador ou Gram (+)
Amarelo Vermelho neg neg Crescimento na superfície = Gram (+) ouesquecimento de picar a base
Amarelo Amarelo neg varia Enterobactérias ou *Aeromonas* Lac (neg)
Amarelo Amarelo + varia *Samonella*, *Proteus*/*Morganella*/*Providencia* e *Citrobacter*

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar por até 6 meses de 2 a 8°C.

RECOMENDAÇÕES

- Quando há produção de H^2S significa que a base é sempre ácida.
- Não realizar leitura com menos de 18 ou mais de 24 horas, podendo resultar em falsasreações.

- Não utilizar alças bacteriológicas para não fragmentar o meio, ocasionando falsa reação degás, utilizar fio bacteriológico.
- Qualquer traço de escurecimento no meio deve ser indicado com H^2S positivo.

ÁGAR BASE URÉIA (CHRISTENSEN)

PRINCÍPIO

- Determinar a habilidade do microrganismo de degradar a uréia em duas moléculas deamônia pela ação da enzima urease, resultando na alcalinização do meio.

UTILIDADE

- Bacilos Gram negativos fermentadores e não fermentadores, *Staphylococcus* e *Haemophilus.*

FÓRMULA /PRODUTO

- Meio comercial: Uréia.
- Solução de uréia a 40% (40 g uréia + 100 ml de água destilada).

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio de uréia conforme instruções do fabricante;
- Esterilizar em autoclave;
- Resfriar até 50°C e adicionar assepticamente 5 ml da solução de uréia a 40% em
- 95 ml do meio base;
- Homogeneizar e distribuir 3 ml do meio assepticamente em tubos estéreis com tampa derosca;
- Inclinar os tubos ainda quentes para que solidifiquem com a superfície em forma de bico deflauta (ângulo de 45°). Deixar solidificar em temperatura ambiente.
- Obs: A solução de uréia a 40% é uma solução hipertônica e o risco de contaminação ébaixo, porém, pode-se esterilizar a solução por filtração (filtro Millipore de 0,45 µm).

CONTROLE DE QUALIDADE

Esterilidade: colocar 100% do lote preparado na estufa 35 ±1°C por 24 horas. Se não houvermudança de cor liberar para uso. Mod IV - **42**

- Positivo: *Proteus vulgaris* ATCC 13315
- Negativo: *Escherichia coli* ATCC 25922

INOCULAÇÃO

- Inocular colônia pura de 18 a 24 horas; Fazer um inóculo denso;
- Semear na superfície do meio, não picar a base, pois a base pode servir como controle;
- Incubar 35°C de 6 a 24 horas, podendo ser necessário até 6 dias.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: amarelo palha.
- Positivo: alteração do meio para cor de rosa, pink.
- Negativo: sem alteração de cor do meio.

Diferentes graus de hidrólise da uréia podem ocorrer:

- Tubo inteiro cor pink. Superfície do tubo cor pink, base não muda de cor.
- Fracamente positivo: ápice cor pink, restante do tubo não muda de cor.
- Positivo rápido: 1 – 6 horas para *Proteus* spp. Positivo tardio: 24 horas a 6 dias ou maistempo de incubação. Ex: algumas cepas de *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter, Haemophilus.*

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar de 4 a 8°C por até 6 meses.
- Após este período realizar controle negativo e positivo semanalmente.

RECOMENDAÇÕES

- Não aquecer a solução base da uréia, pois a uréia pode se decompor se aquecida.
- Não utilizar a uréia de Stuart porque é menos sensível para detectar a presença de urease.
- Não deixar o meio em temperatura ambiente pode ocorrer autohidrólise.Mod IV - **43**

5. FÓRMULAS E PRODUTOS PARA PROVAS DE IDENTIFICAÇÃOPARA

PROVA DE CATALASE

PRINCÍPIO

- A catalase é uma enzima que decompõe o peróxido de hidrogênio (H2O2) em água eoxigênio.

UTILIDADE

- Para *Staphylococcus, Streptococcus, Enterococcus, Listeria, Corynebacterium,Micrococcus, Bacillus, Moraxella catarrhalis.*

FÓRMULA/ PRODUTO

- Peróxido de Hidrogênio (H2O2) 3%.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo: cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ou *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.
- Negativo: cepa de *Streptococcus do grupo viridans* ou *Streptococcus pneumoniae* ATCC6305.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- peróxido de hidrogênio deve ser mantido em local seco, ao abrigo de luz e calor.

- Validade: ver recomendações do fabricante.

INOCULAÇÃO

- Colocar uma gota de peróxido de hidrogênio (água oxigenada) 3% sobre uma lâmina;
- Com auxílio de fio bacteriológico, agregar a colônia em estudo na gota de peróxido dehidrogênio.

INTERPRETAÇÃO

- Positivo: Presença imediata de bolhas - a produção de efervescência indica a conversão doH_2O_2 em água e oxigênio gasoso.
- Negativo: Ausência de bolhas ou efervescência.

RECOMENDAÇÕES

- Evitar o uso de meios contendo sangue, pois os eritrócitos podem produzir reação fraca decatalase.
- Para uso de outra cepa de *Staphylococcus* para o controle positivo, não usar cepas de*Staphylococcus saccharolyticus* e *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius*, pois são catalase negativos.

PARA PROVA DE COAGULASE

PRINCÍPIO

- Verificar a capacidade de microrganismos reagirem com o plasma e formarem um coágulo,uma vez que a coagulase é uma proteína com atividade similar à protombrina, capaz de convertero fibrinogênio em fibrina, que resulta na formação de um coágulo visível.
- Pode ser encontrada em duas formas que possuem diferentes propriedades: coagulaseconjugada e coagulase livre.
- **A coagulase conjugada** (prova em lâmina), é também conhecida como fator deaglutinação, encontra-se unida à parede celular bacteriana e não está presente em filtrados de cultivos.Mod IV - **44** Quando as células bacterianas são suspensas em plasma (fibrinogênio), formam-se cordõesde fibrina entre elas, o que causa agrupamento sob a forma de grumos visíveis.
- **A coagulase livre** (prova em tubo), é uma substância similar à trombina e está presente emfiltrados de cultivos. É secretada extracelularmente e reage com uma substância presente no plasma denominado Fator de Reação com a Coagulase – CRF, para formar um complexo que, por

sua vez, reage com fibrinogênio, formando fibrina (coágulos).

- Quando uma suspensão em plasma do microrganismo produtor de coagulase é preparadaem tubo de ensaio, forma-se um coágulo visível após o período de incubação.

UTILIDADE

- Separar as espécies de *Staphylococcus* de importância clínica, *S. aureus* – coagulasepositiva, das demais espécies – coagulase negativa.

FÓRMULA / PRODUTO

- Plasma de coelho com EDTA liofilizado.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- Negativo: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- plasma antes e depois de reconstituído, deve ser mantido refrigerado.
- Validade: ver recomendações do fabricante.

INOCULAÇÃO

Coagulase conjugada:

- Traçar dois círculos com lápis de cera em uma lâmina de vidro;
- Colocar duas gotas de água destilada ou solução fisiológica estéreis dentro de cada círculo;
- Com auxílio de um fio bacteriológico agregar a colônia em estudo, homogeneizandodelicadamente em cada círculo;
- Colocar uma gota de plasma para a prova de coagulase em um dos círculos;
- No outro círculo, adicionar outra gota de água destilada ou solução fisiológica estéreis,como controle;
- Homogeneizar com palito de madeira;
- Inclinar a lâmina delicadamente, para frente e para trás;
- Observar presença de aglutinação.

Coagulase livre:

- Com auxílio do fio bacteriológico, suspender colônias em estudo em caldo BHI e colocar emestufa à 37ºC até que turve;
- Se necessário, acertar a turbidez até 0,5 da escala de MacFarland;
- Em um tubo de ensaio estéril, colocar 0,5 ml de plasma reconstituído e 0,5 ml do caldo BHIcom crescimento bacteriano recém turvado;
- Incubar em estufa à 35ºC 4 horas; Verificar se há presença de coágulo;
- Se não houver presença de coágulo, incubar o tubo em temperatura ambiente e repetir asleituras

com 18 e 24 horas de incubação.Mod
IV - **45**

INTERPRETAÇÃO

Coagulase conjugada:

- Positiva: formação de precipitado branco e aglutinação dos microrganismos da suspensão,após 15 segundos, no círculo que contém o plasma.
- Negativa: ausência de aglutinação no círculo que contém o plasma.
- Controle sem plasma: deverá ser leitoso e uniforme, sem presença de precipitado ouaglutinação.

A presença de precipitado ou aglutinação, torna a prova inespecífica, devendo ser repetida aprova em tubo.

Coagulase livre:

- Positiva: presença de qualquer grau de coágulo.
- Negativa: ausência de coágulo.

RECOMENDAÇÕES

- Para a coagulase em tubo, as provas negativas após 4 horas a 37ºC, os tubos devem sermantidos em temperatura ambiente, pois a incubação prolongada a 37ºC podem produzir fibronolisinas, o que causa dissolução do coágulo durante a incubação.
- Durante a leitura inclinar o tubo delicadamente e não agitar, pois a agitação podedesmanchar os coágulos parcialmente formados. Recomenda-se o uso de plasma de coelho com EDTA.
- Não utilizar plasma citratado, pois os microrganismos capazes de metabolizar o citrato(como os *Enterococcus)*, darão resultados positivos se, forem confundidos com estafilococos.
- Plasma humano não é recomendado, pois contém quantidades variadas de Fator de Reação com a Coagulase e de anticorpos antiestafilococos, podendo dar uma prova falso/negativa.

PARA PROVA DE GELATINASE

PRINCÍPIO

- Determina a habilidade do microrganismo de produzir enzimas proteolíticas (gelatinases)que liquefaz/hidrolisa gelatina.

UTILIDADE

- Identificar e classificar bactérias fermentadoras, não fermentadoras e bacilos Gram positivosesporulados.

FÓRMULA / PRODUTO

- Filme não revelado de Raio X.
- Salina 0,9 % estéril ou água destilada estéril.

PROCEDIMENTOS

- Cortar a fita de filme de Raio X em tamanhos de aproximadamente 5 mm X 1 cm;
- Armazenar em frasco estéril.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
- Negativo: Escherichia coli ATCC 25922.

INOCULAÇÃO

- Em um tubo 13 x 100 mm, colocar 1,0 ml de salina 0,9% estéril ou água destilada estéril.;
- Com o auxílio de uma alça bacteriológica, fazer um inóculo denso da bactéria a ser testada,adicionar uma fita de raio x. Fazer o inóculo de colônias de crescimento de 18 a 24 horas;
- Realizar um tubo controle, com salina 0,9% estéril ou água destilada estéril e a fita de RaioX, sem inóculo.

INTERPRETAÇÃO

- Positivo: emulsão de gelatina (cor verde) na porção submersa do filme torna-setransparente (clara).
- Negativo: fita permanece verde, emulsão esverdeada permanece na porção submersa dofilme.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Fitas: seguir instruções do fabricante.

RECOMENDAÇÕES

- Utilizar filme de Raio X não revelado.**PARA**

PROVA DE LECITINASE PRINCÍPIO

- Cepas produtoras de lecitinase produzem zona opaca ao redor do inóculo.

UTILIDADE

- Diferenciação de espécies de *Bacillus* e *Clostridium.*

FÓRMULA / PRODUTO

Fórmula - meio base:

Gema de ovo de galinha depende do volume de meio base à ser utilizadoProteose de peptona nº 2 40 g
Fosfato dissódico 5 g
Fosfato de potássio 1 g

Cloreto de sódio 2 g Sulfato de
magnésio 0,1 gGlicose 2 g
Solução de hemina (5 mg/ ml) 1 mlÁgar
20 g
Água destilada 1000 mlpH:
7,6

Solução de gema de ovo à 50%:

Gema de ovo 1 ml
Solução fisiológica estéril 1 ml

PROCEDIMENTOS

Meio base:

- Pesar e hidratar todos os componentes, exceto a solução de gema de ovo;
- Aquecer em bico de Bunsen até fundir o ágar;
- Distribuir 20 ml por tubo;
- Esterilizar em autoclave.

Meio para uso:

- Resfriar a 50ºC e adicionar 1 ml da solução de gema de ovo a 50%;
- Homogeneizar bem e distribuir em placas de Petri de 90 mm.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo: *Bacillus cereus, Clostridium perfringens* ATCC 13124.
- Negativo: *Bacillus subtilis* ATCC 6633*, Clostridium difficile* ATCC 9689.Mod IV - **47**

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Meio base (para estoque): 4 a 8ºC fechado, durante 6 meses.
- Meio para uso: 4 a 8°C, embalado, durante 1 semana.

INOCULAÇÃO

- Com auxílio de um fio bacteriológico, tocar nas colônias em estudo e fazer um esfregaçocircular e denso sobre a superfície do meio.
- Incubar à 37ºC 24 horas em aerobiose - para cepas de *Bacillus* spp.;
- Incubar à 37ºC 48 horas em anaerobiose - para cepas de *Clostridium* spp.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: amarelo.
- Positivo: formação de halo branco ao redor das colônias.
- Negativo: ausência de halo, meio fica inalterado.

RECOMENDAÇÕES

- Não usar ovos velhos.
- Não usar meio vencido. **PARA**

PROVA DE OXIDASEPRINCÍPIO

- O teste de oxidase é baseado na produção intracelular da enzima oxidase pela bactéria.

UTILIDADE

- Ajuda caracterizar espécies de *Neisseria*, distingui não fermentadores (oxidase positiva) deenterobactérias (oxidase negativa). Diferencia algumas bactérias fermentadoras oxidase positiva entre elas *Plesiomonas shigelloides, Aeromonas* spp. e *Vibrio* spp.

FÓRMULA / PRODUTO

- Reativo para teste de oxidade preparado no laboratório: N,N,N,N-tetrametil-p-fenilenodiamina mono-hidrocloridrato 1g Água destilada 100 ml
- Tiras impregnadas com o reativo (comercial pronto para uso).
- Reativo de oxidase em ampolas (comercial pronto para uso), para ser revelado em papel defiltro.

PROCEDIMENTOS

Reativo para teste de oxidase:

- Pesar 1g. de N,N,N,N-tetrametil-p-fenileno diamina mono-hidrocloridrato em um Becker eadicionar 100 ml água destilada, vagarosamente para não oxidar a solução;
- Colocar o papel de filtro cortado em tiras dentro do Becker com o reativo;
- Deixar o papel de filtro absorver o reativo. Desprezar o reativo que sobrou;
- Colocar o papel na estufa a 35 ±1°C para secar. Deixar o papel pendurado sobre um Beckerpara juntar o excesso de reativo;
- Cortar a fita em tamanhos menores e guardar em frasco escuro.

Obs: Não utilizar luvas para fazer o procedimento de preparo e corte das fitas.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (desenvolvimento de cor roxa).
- Negativo: *Escherichia coli* ATCC 25922 (sem alteração da cor).Mod IV - **48**

INOCULAÇÃO

- Com auxílio de um palito de madeira ou plástico, espalhar a colônia a ser testada sobre afita de oxidase.
- **Observar se há formação de cor roxa de imediato**.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original: branca ou levemente azulada
- Oxidase positiva: produção de cor roxa imediatamente no local da inoculação da bactéria.
- Oxidase negativa: não há mudança da cor do papel no local da inoculação da bactéria.
- **Não considerar alteração de cor tardia.**

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Fitas: 3 meses, quando conservadas em frasco escuro de 4 a 8°C.
- Reativo: deve ser preparado no momento de impregnar as fitas.

RECOMENDAÇÕES

- Não fazer o teste de colônias de crescimento de meios que contenham glicose, afermentação inibe a atividade da oxidase, podendo resultar em falso negativo.
- Não fazer teste de oxidase de colônias de crescimento de meios seletivos (Mac Conkey,XLD, EMB).
- Não usar alça ou agulha porque pode conter traços de ferro, podendo oxidar a fita e resultarem falso positivo.
- Utilizar colônias de meios não seletivos tais como: ágar sangue e ágar chocolate.
- Os reagentes para oxidase, se auto oxidam rapidamente com o ar, perdendo asensibilidade.
- Não cortar o papel de filtro com tesoura, pois podem conter traços de ferro.

PARA FERMENTAÇÃO DE CARBOIDRATOS

PRINCÍPIO

- A fermentação de carboidratos é amplamente utilizada para a diferenciação de gêneros eidentificação de espécies bacterianas.
- A prova consiste em verificar a capacidade do microrganismo fermentar ou não umdeterminado carboidrato, permitindo assim verificar as suas características que auxiliaram na identificação.

UTILIDADE

- Identificar e separar espécies de *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Staphylococcuscoagulase negativa*.

FÓRMULA/ PRODUTO

- Produto: Caldo para fermentação de carboidratos.
- Carboidratos mais utilizados: arabinose, sorbitol, rafinose, trealose, manitol, entre outros.
- Fórmula (base):

BHI caldo 22,5 g Carboidrato 10 g

Indicador * 1 ml Água destilada 200 mlÁgua
destilada 900 ml
* Indicador púrpura de bromocresol:
Púrpura de bromocresol 1,6 g
Etanol a 95% 100 ml
Mod IV - **49**

PROCEDIMENTOS

- Esterilizar os carboidratos, separadamente, por filtração e reservar;
- Pesar o BHI em béquer, acrescentar a água e homogeneizar bem;
- Adicionar o indicador e homogeneizar novamente;
- Esterilizar em autoclave;
- Após esfriar a base, adicionar o carboidrato esterilizado por filtração;
- Distribuir 3 ml por tubo.

CONTROLE DE QUALIDADE CARBOIDRATOS

POSITIVO NEGATIVO

Arabinose *Enterococcus faecium Enterococcus faecalis* Rafinose *Enterococcus casseliflavus Enterococcus faecalis* Sorbitol *Enterococcus faecalis Enterococcus gallinarum* Maltose *Staphylococcus epidermidis Staphylococcus schleiferi*

Trealose *Staphylococcus lugdunensis Staphylococcus epidermidis*

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar entre 4 a 10 ºC por 3 meses.

INOCULAÇÃO

- Dissolver as colônias no caldo;
- Incubar à 35ºC 24 horas.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: púrpura
- Positivo: Crescimento bacteriano (turvação do meio) com viragem do indicador paraamarelo;
- Negativo: Ausência de crescimento. O meio permanece com a cor original, púrpura e semturvação.

RECOMENDAÇÕES

- Para provas negativas, incubar um período maior (48 horas);
- Não autoclavar a base com o carboidrato, pois a alta temperatura pode degradar ocarboidrato.

PARA A PROVA DE HIDRÓLISE

PRINCÍPIO

- A prova de hidrólise PYR é um teste enzimático que consiste na hidrólise do substratoLpyrrolidonyl-alfa-naftylamide por uma enzima bacteriana, a L-pyroglutamyl-aminopeptidase. A hidrólise do substrato libera β-naphtylamide, que é detectada com a adição do reagente, o N,Ndimetilaminocinamaldeído,

que forma uma base de Schiff, de coloração vermelha.

UTILIDADE

- Teste presuntivo para identificar *Streptococcus beta hemolítico presumível do grupo A deLancefield (S. pyogenes)* e *Enterococcus* spp.
- Identificação de algumas espécies *Staphylococcus coagulase negativa*.
- Identificação de bacilos Gram negativos não fermentadores.

FÓRMULA / PRODUTO

- Teste comercial : PYR test
- Fórmula - Caldo base de PYR (caldo de Todd-Hewitt):

Mod IV - **50**

BHI caldo 500 g
Neopeptona 20 g
Dextrose 2 g Cloreto de
sódio 2 g
Fosfato dissódico 0,4 g
Carbonato de sódio 2,5 gÁgua
destilada 1000 ml

Para cada 100 ml de caldo base, adicionar 0,01 ml de L-pyrrolidonyl-alfa-naftylamide.Reagente de PYR comercial: N,N-dimetilaminocinamaldeído a 0,01% **PROCEDIMENTOS**

- Pesar os componentes em béquer;
- Adicionar a água e homogeneizar bem até completa dissolução;
- Adicionar o L-pyrrolidonyl-alfa-naftylamide e homogeneizar novamente;
- Distribuir 0,2 ml por tubo;
- Esterilizar em autoclave.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo: *Streptococcus beta hemolítico presumível do grupo A de Lancefield (S. pyogenes* ATCC 19615*)* ou *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 .
- Negativo: *Streptococcus do grupo viridans* ou *Streptococcus pneumoniae*.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar embalado de 4 a 8°C por até 3 meses.

- Comercial: ver instruções do fabricante

INOCULAÇÃO

- Dissolver as colônias no caldo OU;
- No caso de usar kits comerciais, com auxílio de uma pinça flambada, colocar um discoimpregnado com o substrato de PYR sobre as colônias em estudo recém isoladas;
- Incubar à 37ºC por 4 horas;
- Adicionar 1 gota do reagente PYR (se caldo) OU;
- Retirar o disco e colocar sobre uma lâmina e adicionar 1 gota do reagente PYR.

INTERPRETAÇÃO

- Positivo: Desenvolvimento de cor vermelho cereja em 1 minuto (após adicionar o reagentede PYR).
- Negativo: Sem alteração de cor (permanece amarela ou alaranjada).

RECOMENDAÇÕES

- Para identificações presuntivas do *Streptococcus pyogenes* ou de *Enterococcus* spp., confirmar se realmente são cocos Gram positivos/ catalase negativos, pois algumas cepas de*Staphylococcus* spp.*, Aerococos e Arcanobacterium haemolyticum,* podem ser PYR positivos
- Raras cepas de *Enterococcus* spp. podem ser catalase positiva, confirmar com outrasprovas (como bílis esculina) tratar de enterococo ou não;
- Não utilizar colônias com crescimento superior a 24 horas, culturas velhas podem darresultado falso - negativo;
- Não exceder o tempo de leitura. **PARA**

CRESCIMENTO A 42 E 44°C Mod IV - **51**

PRINCÍPIO

- Verificar a capacidade do microrganismo crescer em altas temperaturas.

UTILIDADE

- Identificação de bacilos Gram negativos não fermentadores.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Caldo BHI (infusão de cérebro e coração).
- Indicador púrpura de bromotimol (1,6 g de do indicador em 100 ml de álcool etílico 95%).

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Distribuir 3,0 ml em tubos com tampa de rosca;

- Acrescentar o indicador púrpura de bromotimol (1 ml de indicador em 1000 ml de meio);
- Esterilizar em autoclave;
- Retirar os tubos da autoclave e deixar esfriar em temperatura ambiente.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Temperatura 42°C: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
- Temperatura 44°C: *Acinetobacter baumannii*.

INOCULAÇÃO

- Com o auxílio de uma alça ou fio bacteriológico, inocular a colônia a ser testada;
- Realizar o teste com colônias puras de 18 a 24 horas;
- Incubar em banho Maria na temperatura a ser testada, 42°C ou 44°C.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: púrpura.
- Positivo: presença de turvação e viragem do indicador de cor púrpura para amarelo =crescimento bacteriano.
- Negativo: ausência de turvação e permanência da cor púrpura = ausência de crescimentobacteriano.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar por até 6 meses de 2 a 8°C.

RECOMENDAÇÕES

- Não fazer inóculo muito denso, pode resultar em falsa turvação.
- Importante o controle da temperatura do banho, com termômetro de máxima e mínima.

PARA TESTE DE MOTILIDADE

PRINCÍPIO

- A bactéria é móvel através do seu flagelo. Flagelos ocorrem nos bacilos Gram negativos,poucas formas de cocos são móveis. A bactéria pode conter um ou muitos flagelos e sua localizaçãovaria com a espécie da bactéria e as condições de cultura.

UTILIDADE

- Determinar se o microrganismo é o não móvel; Meios associados a outros testes: Meios SIM (Sulfato, Indol, Motilidade), MILI (Motilidade, Indol, Lisina), MIO (Motilidade, Indol, Ornitina) utilizados para testes enterobactérias; Meio motilidade em caldo utilizado para nãofermentadores e *Enterobacter cloacae* (em casos de dúvidas).

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Motilidade
- Meio comercial: SIM
- Meio comercial: MILI

- Meio comercial: MIO
- Meio Comercial: BHI (brain heart infusion)
- Meio Comercial: Triptona
- Solução de Vermelho de Tetrazólio.

PROCEDIMENTOS

Meio Motilidade:

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Aquecer sob agitação, até fundir o meio;
- Distribuir aproximadamente 2,0 ml em tubos com tampas de rosca;
- Esterilizar em autoclave;
- Retirar os tubos da autoclave.
- Deixar solidificar em temperatura ambiente na posição vertical.

Meio Motilidade com adição da solução de Vermelho de Tetrazólio:

- Pesar e hidratar conforme instruções do fabricante;
- Aquecer sob agitação, até fundir o meio;
- Adicionar 0,1 ml para cada 100 ml de base de solução de vermelho de tetrazólio 0,1% ehomogeneizar bem;
- Distribuir aproximadamente 2,0 ml em tubos com tampa de rosca;
- Esterilizar em autoclave;
- Retirar os tubos da autoclave;
- Deixar solidificar em temperatura ambiente na posição vertical.

Meio SIM /Meio MILI/Meio MIO

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Aquecer sob agitação, até fundir o meio;
- Distribuir aproximadamente 3,0 ml em tubos com tampa de rosca;
- Esterilizar em autoclave;
- Retirar os tubos da autoclave.
- Deixar solidificar em temperatura ambiente na posição vertical.

Caldo BHI (motilidade em caldo)

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Distribuir 3,0 ml em tubos com tampa de rosca;
- Esterilizar em autoclave; Retirar os tubos da autoclave;
- Deixar esfriar em temperatura ambiente.

Meio Caldo Triptona

- Pesar e hidratar conforme instruções do fabricante;
- Aquecer sob agitação, até fundir o meio;
- Distribuir aproximadamente 3,0 ml em tubos com tampas de rosca;

- Esterilizar em autoclave; Retirar os tubos da autoclave;
- Deixar esfriar em temperatura ambiente.

CONTROLE DE QUALIDADE

Meio Motilidade:

- Positivo: *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Negativo: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Meio SIM:

Mod IV - **53**

Microrganismo H^2S Indol Motilidade

Proteus vulgaris
Shigella sonnei
Escherichia coli + neg neg + neg + + neg +
Proteus vulgaris ATCC 13315, *Shigella sonnei* ATCC 25931, *Escherichia coli* ATCC 25922

Meio MIO:

Microrganismo Motilidade Indol Ornitina

Escherichia coli
Enterobacter aerogenes
Klebsiella pneumoniae + neg neg + neg + + neg +
Eschericha coli ATCC 25922, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883.

Meio MILI:

Microrganismo Crescimento Lisina Motilidade Indol

E. coli denso **+ +** neg

K. pneum. denso **+** neg neg

P. alcalifaciens denso neg **+** neg

S. enteritidis denso **+ +** neg

S. flexneri denso neg neg neg

E.coli ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Providencia alcalifaciens* ATCC9886, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Shigella flexneri* ATCC 12022

Meio BHI/Caldo Triptona:

- Positivo: *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Negativo: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Negativo: meio sem inocular.

INOCULAÇÃO

Meio Motilidade / Meio SIM / Meio MILI / Meio MIO

- Com o auxílio de um fio bacteriológico inocular uma colônia pura de 18 – 24 horas, no meiona posição vertical, lentamente até a base;
- Afastar a agulha seguindo a linha inicial da incubação;
- Incubar a 35°C por 18-24 horas.

Meio Caldo BHI / Meio Caldo Triptona

- Com o auxílio de uma alça ou fio bacteriológico, inocular colônia pura de 18 a 24 horas;
- Incubar a 35±2°C por 24 a 48 horas.

INTERPRETAÇÃO

Meio de Motilidade:

- Motilidade positiva: organismos móveis migram pela linha do inóculo e difundem-se nomeio, causando turbidez.
- Motilidade negativa: bactéria tem um crescimento acentuado ao longo da linha de inóculo,em volta continua límpido.

Meio de Motilidade com Tetrazólio:

- Motilidade positiva: organismos móveis produzem uma nuvem cor pink e difundem-secompletamente no meio.
- Motilidade negativa: há crescimento da bactéria e produção de cor vermelho claro na linhado inóculo e em volta do meio continua límpido.
- Se resultado for negativo incubar a 21-25°C por até 5 dias.

Revelação com reativo de Kovacs no meio SIM:

- Realizar a leitura da motilidade e do H2S.Mod IV -
54
- Em seguida adicionar 5 gotas do reativo de Kovacs pela parede do tubo no meio contendo ocrescimento bacteriano. **Agitar otubo suavemente** e proceder a leitura do indol.

Motilidade positiva: microrganismos móveis migram pela linha do inóculo e difundem-se nomeio causando turbidez;

Motilidade negativa: bactéria tem um crescimento acentuado ao longo da linha do inóculo, emvolta continua límpido;

H^2S positivo: ao longo da linha de inoculação aparecerá a cor negra;H^2S negativo: linha ao longo da inoculação inalterada;

Indol positivo aparecerá um anel vermelho;

Indol negativo permanecerá um anel amarelo (cor original do reativo de Kovacs);

Meio MILI

- Interpretar as reações da motilidade e lisina antes da adição do reagente de Kovacs paradetecção do indol. Motilidade positiva: indicado pelo crescimento na linha e em volta do inóculo. Motilidade negativa: crescimento somente na linha do inóculo. Lisina decarboxilase positiva:indicado pela cor púrpura no meio (essa cor pode variar de intensa ou mais leve, de acordo com a redução do indicador). Lisina decarboxilase negativa: indicado pela cor amarela do meio.

Indol positivo: indicado pela formação de cor pink/vermelho, após a adição de 3 a 4 gotas dereagente de Kovacs na superfície do meio e agitação suave no tubo. Indol negativo: reação negativa é indicada pelo desenvolvimento de cor amarela.

Meio MIO

- Interpretar as reações da motilidade e ornitina antes da adição do reagente de Kovacs paradetecção do indol. Motilidade positiva: indicado pelo crescimento na linha e em volta do inóculo.

Motilidade negativa: crescimento somente na linha do inóculo. Ornitina decarboxilase positiva: indicado pela cor púrpura no meio. Ornitina decarboxilase negativa: indicado pela cor amarela no meio.

Indol positivo: indicado pela formação de cor pink/vermelho, após a adição de 3 a 4 gotas dereagente de Kovacs na superfície do meio e agitação suave no tubo.

Indol negativo: reação negativa é indicada pelo aparecimento da cor amarela.

Meio caldo BHI/ Meio Caldo Triptona

- Colocar uma gota do meio entre lâmina e lamínula e observar ao microscópio com objetivade 40X. A motilidade verdadeira deve ser diferenciada do movimento “browniano”, verificandoque o microrganismo se desloca em várias direções. Motilidade positiva: bactérias se movendo de um lado para outro. Motilidade negativa: bactéria apresenta somente movimento “browniano”.**CONSERVAÇÃO E VALIDADE**

- Meios motilidade, SIM, MILI, MIO e BHI: conservar de 4 a 8° C por até 6 meses.

RECOMENDAÇÕES

- A temperatura de incubação é extremamente crítica, porque muitos microrganismos são móveis a 15-25°C e não móveis a 37°C. Se houver suspeita que o microrganismo pode exibirmotilidade em baixa temperatura, inocular dois tubos simultaneamente, incubando um a 35°Ce outro a temperatura ambiente 22-25°C. Uso do sal de tetrazólio no meio de motilidade é desejável,mas pode inibir certos microrganismos fastidiosos. Mod IV - **55**

- Flagelo é o órgão locomotor e é composto de proteína, essa proteína pode se desnaturarcom excesso de calor. Por isso cultura testada em temperaturas acima do indicado para o teste demotilidade pode fornecer um resultado falso negativo.
- Flagelo pode ser destruído também sob agitação violenta do tubo de cultura da bactéria,podendo produzir um resultado de motilidade fraco positivo ou falso negativo.
- Microrganismos mantidos em estoques de cultura em meios artificiais por longos períodostendem a perdem sua motilidade.
- Os testes de motilidade em aneróbios são difíceis de serem interpretados, sendosignificativos apenas os resultados positivos.

PARA PROVA DE TOLERÂNCIA AO NaCl 6,5%PRINCÍPIO

- A tolerância ao NaCl a 6,5% é uma prova utilizada para verificar a capacidade de algunsmicrorganismos crescerem em presença do sal.
- Meio base utilizado é o BHI caldo, que é um meio nutritivo de uso geral, empregado para ocultivo de muitas bactérias. Este meio normalmente contém 0,5 % de NaCl e aumenta-se a concentração para 6,5 %, tornando um meio semi-seletivo para o desenvolvimento de algunsmicrorganismos.

UTILIDADE

- Separa *Enterococcus* spp., que são NaCl 6,5 % positivo dos demais *Streptococcus* spp.,que são NaCl 6,5% negativos. Na identificação de bacilos Gram negativos não fermentadores.

FÓRMULA / PRODUTO

- Não há meio pronto para uso.
- **Fórmula:**

BHI caldo 25 g
NaCl 60 g Indicador * 1 ml
Glicose 1 g
Água destilada 1000 ml
* Indicador púrpura de bromocresol:
Púrpura de bromocresol 1,6 g
Etanol a 95% 100 ml Observação: o uso de indicador é opcional.

PROCEDIMENTOS

- Pesar o BHI, o NaCl e a glicose em um béquer;
- Adicionar a água e homogeneizar bem até completa dissolução;

- Adicionar o indicador e homogeneizar novamente;
- Distribuir 3 ml por tubo;
- Esterilizar em autoclave.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ou *Enterococcus faecium*
- Negativo: *Streptococcus do grupo viridans* ou *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar embalado de 4 a 8°C por até 3 meses.Mod IV -

56

INOCULAÇÃO

- Dissolver as colônias no caldo;
- Incubar.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: amarelo. Positivo: Crescimento bacteriano (turvação do meio) com ousem viragem do indicador. Negativo: Ausência de crescimento. O meio permanece com a cororiginal, púrpura e sem turvação.

RECOMENDAÇÕES

- Provas negativas com 24 horas de incubação, recomenda-se período de incubação maior(48 horas); Verificar a quantidade de NaCl contido na fórmula do meio de BHI, pois a concentração poderá ser outra, dependendo do fabricante do meio, e a concentração final domeio de NaCl a 6,5 % poderá ser superior ou inferior à concentração desejada;
- Não carregar no inóculo, pois o excesso poderá ser interpretado como crescimento e darresultados falso - positivos (para os meios utilizados sem o indicador);
- Antes da leitura, agitar delicadamente o tubo, pois pode haver sedimentação das células bacterianas formadas; Os *Streptococcus beta hemolítico presumível do grupo B de Lancefield(S. agalactiae)* e ocasionalmente os *Streptococcus beta hemolítico presumível do grupo A de Lancefield (S. pyogenes)* podem ser tolerantes ao NaCl 6,5%. Utilizar outras provas para confirmar a identificação destas espécies. Mod IV - **57**

6. DISCOS PARA IDENTIFICAÇÃO

BACITRACINA

PRINCÍPIO

- *Streptococcus* beta hemolítico do grupo A são sensíveis a concentrações baixas debacitracina.

UTILIDADE

- Identificação presuntiva de *Streptococcus* beta hemolítico do grupo A *(S. pyogenes).*

PRODUTO

- Discos de bacitracina de 0,04 unidades/ disco.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo (Sensível): *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.
- Negativo (Resistente): *Streptococcus agalactiae* ATCC 13813.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Manter à 4ºC.
- Validade: ver recomendações do fabricante.

INOCULAÇÃO

- À partir de caldo BHI ou TSB recém turvado, semear na superfície do meio Mueller hintonsangue, com auxílio do "swab";
- Colocar um disco de bacitracina e pressionar levemente;
- Incubar à 35ºC 18 a 24 horas.

INTERPRETAÇÃO

- Positivo (Sensível): Presença de qualquer halo ao redor do disco.
- Negativo (Resistente): ausência de halo ao redor do disco.

RECOMENDAÇÕES

- *Streptococcus* alfa hemolíticos são sensíveis a baixas concentrações de bacitracina.
- Não existem dados disponíveis que indiquem a necessidade de medir os halos de inibição.
- O inóculo bacteriano deve ser confluente, inóculo muito diluído pode permitir que os *Streptococcus* não pertencentes ao grupo A pareçam sensíveis à bacitracina.

NOVOBIOCINA

PRINCÍPIO

- Separa espécies de *Staphylococcus* coagulase negativa que podem ser sensíveis ou não aNovobiocina.

UTILIDADE

- Separa cepas de *Staphylococcus saprophyticcus* (Novobiocina resistente) das demaiscepas de *Staphylococcus* coagulase negativa de importância clínica; *Staphylococcus saprophyticcus* é aúnica espécie isolada em humanos como causadora de infecções urinárias.

Mod IV - **58**

FÓRMULA / PRODUTO

- Discos de Novobiocina de 5 µg.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo: *Staphylococcus saprophyticcus* ATCC 15305.

- Negativo: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Refrigerado.
- Validade: ver recomendações do fabricante.

INOCULAÇÃO

- Preparar uma suspensão do microrganismo em estudo com crescimento recente (até 24horas) em caldo BHI, TSA ou solução fisiológica estéril, acertando a turvação na escala 0,5 deMacFarland;
- Com auxílio de um "swab", semear na superfície de uma placa de Ágar Mueller Hinton;
- Com uma pinça previamente flambada, colocar um disco de Novobiocina na superfície domeio epressionar delicadamente;
- Incubar.

INTERPRETAÇÃO

- Resistente: Ausência de halo de inibição ou halos <= 15 mm.
- Sensível: Presença de halo de inibição igual ou superior a 16 mm.

RECOMENDAÇÕES

- Não usar cepas velhas (com crescimento superior a 24 horas) para fazer a suspensão;
- Se necessário usar cepas velhas, semear em caldo BHI ou TSA e incubar à 37ºC até turvar,acertar a turvação na escala 0,5 de MacFarland para fazer o teste;
- Cepas isoladas de outros materiais biológicos que não urina, fazer identificaçãocomplementar com fermentação de açúcares para confirmar espécie.

OPTOQUINA

PRINCÍPIO

- Cloridrato de etil-hidroxicupreína (optoquina), um derivado da quinina, inibe de formaseletiva o crescimento de *Streptococcus pneumoniae* em concentrações muito baixas (5 µg/ ml oumenores).
- As células do *Streptococcus pneumoniae* que rodeiam o disco sofrem lise, devido àvariação da tensão superficial, e é produzida uma área de inibição.

UTILIDADE

- Separa *Streptococcus pneumoniae* dos demais *Streptococcus* alfa hemolíticos.

FÓRMULA / PRODUTO

- Discos de optoquina de 5 µg

CONTROLE DE QUALIDADE

- Positivo (Sensível): *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305.
- Negativo(Resistente): *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.Mod IV - **59**

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Manter à 4ºC.
- Validade: ver recomendações do fabricante.

INOCULAÇÃO

- À partir de caldo BHI ou TSB recém turvado, semear na superfície do meio Mueller hintonsangue, com auxílio do "swab";
- Colocar um disco de optoquina e pressionar levemente;
- Incubar à 35ºC 18 a 24 horas em jarra com vela acesa ou estufa com 5 a 7 de CO2.

INTERPRETAÇÃO

Positivo (Sensível):

- Disco de 6 mm: halo de inibição de 14 mm ou mais.
- Disco de 10 mm: halo de inibição de 16 mm ou mais.

Negativo (Resistente):

- Disco de 6 mm: halo de inibição inferior à 14 mm ou ausência de halo.
- Disco de 10 mm: halo de inibição inferior à 16 mm ouausência de halo.

RECOMENDAÇÕES

A optoquina pode inibir outros *Streptococcus do grupo viridans*, mas apenas emconcentrações muito elevadas.

7. MEIOS PARA TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOSHTM – HAEMOPHILUS TEST MÉDIUM

PRINCÍPIO

- É um meio suplementado que permite o crescimento das espécies mais exigentes de *Haemophilus,* pois contém em sua fórmula suplementos à base de NAD e cisteína.

UTILIDADE

- Meio padronizado pelo NCCLS para realização do teste de sensibilidade aos antimicrobianos de *Haemophilus influenzae.*

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial HTM
- Suplemento VX: NAD (Coenzima I) e cisteína.

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante em um balão de fundo chato;
- Esterilizar em autoclave;

- Resfriar o meio a 50°C e adicionar o suplemento previamente reidratado;
- Distribuir 50 a 60 ml em placas estéreis de 150 mm (o meio deve ficar com uma espessurahomogênea de 3 a 4 mm);
- Deixar esfriar à temperatura ambiente.

CONTROLE DE QUALIDADE

Crescimento:

- Preparar uma suspensão de *Haemophilus influenzae* ATCC 10211 na escala 0,5 de MacFarland;
- Diluir 1:100 (0,1mL em 9,9 ml de solução fisiológica);
- Semear 0,01 ml da suspensão na placa;
- Incubar a placa 35 ±2°C por 24 horas em estufa com 5% de CO^2.
- Se a bactéria crescer em 24 horas, liberar o lote para uso.

Obs: A aprovação final do meio deve ser feita após os testes com antibióticos, uma vez que inúmeras variáveis como níveis de timina, timidina só podem ser verificadas após o teste comos antibióticos ter sido realizado.

INOCULAÇÃO

- Preparar uma suspensão da bactéria a ser testada em salina 0,9% ou caldo TSB na escala0,5 Mac Farland;
- Embeber o “swab” na suspensão, comprimí-lo na parede do tubo (para eliminar o excesso)e semear na placa; Acrescentar os discos a serem testados;
- Incubar a placa de acordo com instruções do NCCLS para a bactéria a ser testada.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: castanho escuro.
- A zona do diâmetro é particular para cada droga e organismo, sendo comparado comdiâmetros padronizados pelo NCCLS, que determina cada organismo sendo sensível, intermediário ouresistente.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar embalado de 4 a 8°C por até 3 meses.Mod IV -

61

ÁGAR MUELLER HINTON

PRINCÍPIO

- Ágar padronizado por Kirby e Bauer e pelo NCCLS que oferece condições de crescimentodas principais bactérias.

UTILIDADE

- Meio utilizado para a realização do teste de avaliação da resistência aos antimicrobianospelos métodos de difusão em disco e E-test para enterobactérias, não fermentadores, *Staphylococcus*, *Enterococcus sp*. **FÓRMULA / PRODUTO**
- Meio comercial: Ágar Muller Hinton.

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Acertar o pH (7,2 – 7,4);
- Retirar da autoclave e medir novamente o pH;
- Distribuir 50 a 60 ml em cada placa de 150 mm;.
- Deixar esfriar em temperatura ambiente;
- Embalar as placas com plástico PVC transparente e guardar em geladeira (4 a 8°C). Obs: É extremamente importante que o meio tenha espessura homogênea de 3 a 4 mm.**CONTROLE DE QUALIDADE**

Crescimento:

- Preparar uma suspensão de *Escherichia coli* ATCC 25922 na escala 0,5 de Mac Farland;
- Diluir 1:100 (0,1mL em 9,9 ml de solução fisiológica);
- Semear 0,01 ml da suspensão na placa. Incubar a placa 35°C por 24 horas.

Obs: A aprovação final do meio deve ser feita após os testes com antibióticos, uma vez queinúmeras variáveis como níveis de timina, timidina, de cálcio e magnésio só podem ser verificadas após o teste com os antibióticos ter sido realizado.

INOCULAÇÃO

- Preparar uma suspensão da bactéria a ser testada em salina 0,9% ou caldo TSB na escala0,5 Mac Farland;
- Embeber o “swab” na suspensão, comprimí-lo na parede do tubo (para eliminar o excesso)e semear na placa;
- Acrescentar os discos a serem testados;
- Incubar a placa de acordo com instruções do NCCLS para a bactéria a ser testada.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: amarelo palha.
- A zona do diâmetro é particular para cada droga e organismo, sendo comparado comdiâmetros

padronizados pelo NCCLS, que determina cada microrganismo sendo sensível, intermediáriooou resistente.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar embalado de 4 a 8°C por até 3 meses.

RECOMENDAÇÕES

Principais variáveis que podem interferir no resultado do antibiograma:

Mod IV - **62**

- Níveis de Ca2+, Mg2+ : altas concentrações levam a diminuição na atividade de aminoglicosídeos
diante de *Pseudomonas aeruginosa* e da atividade de tetraciclinas para todas as bactérias.Concentrações diminuídas levam a resultados contrários.
- Concentração de timidina ou timina: concentrações em excesso levam à falsa resistênciapara sulfonamidas e trimetropima.
- pH: em pH baixo vamos observar halos de inibição reduzidos para aminoglicosídeos,quinolonas, macrolídeos e lincosaminas e halos aumentados para outros antibióticos (penicilina etetraciclinas). O aumento do pH leva a resultados opostos aos anteriores.
- Espessura do meio: < de 3 mm leva à falsa sensibilidade geral e > 4 mm leva à falsaresistência.

ÁGAR MUELLER HINTON SANGUE

PRINCÍPIO

- Ágar padronizado por Kirby e Bauer e pelo NCCLS que oferece condições de crescimentodas principais bactérias.

UTILIDADE

- Meio utilizado para a realização do teste de avaliação da resistência aos antimicrobianospelos métodos de difusão em disco e E-test de cepas de *Streptococcus pneumoniae* eestreptococos beta-hemolíticos dos grupos A,B,C e G conforme instruções do NCCLS.

FÓRMULA / PRODUTO

- Meio comercial: Ágar Muller Hinton.

- Sangue de carneiro desfibrinado.

PROCEDIMENTOS

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Acertar o pH (7,2 – 7,4); Retirar da autoclave e resfriar a 50°C;
- Adicionar 50 ml de sangue de carneiro desfibrinado por litro de meio de cultura de formaasséptica; Homogeneizar bem sem formar espuma;
- Distribuir 50 a 60 ml em cada placa de 150 mm;
- Deixar esfriar em temperatura ambiente;
- Embalar as placas com plástico PVC transparente e guardar em geladeira de 4 a 8°C. Obs: É extremamente importante que o meio tenha espessura homogênea de 3 a 4 mm. **CONTROLE DE QUALIDADE**

Crescimento:

- Preparar uma suspensão de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305 na escala 0,5 deMacFarland; Diluir 1:100 (0,1 ml em 9,9 ml de solução fisiológica);
- Semear 0,01 ml da suspensão na placa; Incubar a placa 35°C por 20 a 24 horas com 5% deCO^2.
- Se a bactéria crescer em 24 horas, o lote está pronto para uso.

Obs: A aprovação final do meio deve ser feita após os testes com antibióticos, uma vez queinúmeras variáveis como níveis de timina, timidina, de cálcio e magnésio só podem ser verificadas após o teste com os antibióticos ter sido realizado.

INOCULAÇÃO

- Preparar uma suspensão da bactéria a ser testada em salina 0,9% ou caldo TSB na escala0,5 Mac Farland;
- Embeber o “swab” na suspensão, comprimí-lo na parede do tubo (para eliminar o excesso)e semear na placa; Mod IV - **63**
- Acrescentar os discos a serem testados;
- Incubar a placa de acordo com instruções do NCCLS para a bactéria a ser testada.

INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio: vermelho.
- A zona do diâmetro é particular para cada droga e organismo, sendo comparado comdiâmetros do NCCLS, que determina cada microrganismo sendo sensível, intermediário ou resistente.

CONSERVAÇÃO E VALIDADE

- Conservar de 4 a 8°C por até 3 meses.

RECOMENDAÇÕES

Principais variáveis que podem interferir no resultado do antibiograma:

ELABORADO POR:	APROVADO POR:
Profa. Suely Cristina P. de Lima Oliveira	FRANCISCO ROSERLÂNDIO BOTÃO NOGUEIR DIRETOR GERAL IFPB-CAMPUS SOUSA

- Níveis de Ca^{2+}, Mg^{2+} : altas concentrações levam a diminuição na atividade de tetraciclinas para todas as bactérias. Concentrações diminuídas levam a resultados contrários.
- Concentração de timidina ou timina: concentrações em excesso levam à falsa resistência para sulfonamidas e trimetropima.
- pH: em pH baixo vamos observar halos de inibição reduzidos para quinolonas, macrolídeos e lincosaminas e halos aumentados para outros antibióticos (penicilina e tetraciclinas). O aumento do pH leva a resultados opostos aos anteriores.
- Espessura do meio: < de 3 mm leva à falsa sensibilidade geral e > 4 mm leva à falsa resistência.

8. EPIs

- Calça comprida
- Jaleco de manga comprida
- Sapato Fechado
- Luvas de procedimento
- Touca
- Máscara

9. GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS

Autoclavação.