

# Manual de Boas Práticas

LABORATÓRIO DE MICOLOGIA DO CENTRO DE SAÚDE ESCOLA DO  
MARCO UEPA-CCBS

Alana Luanni Messias da Silva  
Mioni Thieli Figueiredo Magalhães de Brito

Produto técnico/tecnológico, 2021



# SUMÁRIO

Apresentação -----	3
Introdução à micologia-----	4
Elementos fundamentais dos fungos-----	5
Micologia médica-----	8
Laboratório de micologia -----	10
Biossegurança em laboratório -----	12
Equipamentos de proteção individual (EPI)-----	16
Equipamento de proteção coletiva (EPC)-----	18
Boas práticas em laboratório clínico-----	20
Utilização de cabines de segurança -----	21
Higienização das mãos -----	22
Procedimentos em caso de acidentes-----	23
Instrução para a limpeza e higienização de bancadas e superfícies -----	26
Coleta, transporte e armazenamento de amostras-----	28
Recomendações gerais de coleta e transporte de amostras-----	29
Procedimentos para coleta de amostras-----	31
Processamento de amostras-----	33
Rotina de diagnóstico -----	36
Corantes e meios de cultura mais utilizados-----	42
Referências bibliográficas -----	46

# APRESENTAÇÃO

O laboratório de micologia (MICOLAB) faz parte do ambulatório de dermatologia do centro de saúde escola do Marco, localizado na cidade de Belém, Pará, Brasil; Trata-se de um laboratório de ensino, pesquisa e extensão, onde há alta rotatividade de professores, pesquisadores, estagiários, alunos de graduação e pós-graduação e funcionários de manutenção, tornando imprescindível o cumprimento dos parâmetros de biossegurança e boas práticas laboratoriais, por este motivo o manual tem por objetivo fornecer instruções escritas sobre boas práticas laboratoriais para prevenir, controlar e eliminar riscos inerentes às atividades realizadas; Padronizar e minimizar erros e repetições nas atividades realizadas; garantir a qualidade efetiva dos processos pré-analíticos, analíticos e pós-analíticos; assegurar a confiabilidade dos serviços laboratoriais prestados.

# INTRODUÇÃO À MICOLOGIA

Os fungos são organismos que convivem conosco todos os dias. Estes organismos são encontrados praticamente em qualquer local do ambiente que nos cerca, inclusive no ar, onde estruturas reprodutivas, na forma de esporos ou conídios, estão prontas para, ao cair em um substrato adequado, desenvolver novas estruturas vegetativas e reprodutivas; são úteis, decompondo resíduos orgânicos, causando a decomposição ou a degradação de alimentos, ou mesmo atacando seres vivos, parasitando-os e, eventualmente, causando a sua morte.

A Micologia é, portanto, a área da Biologia destinada ao estudo dos fungos.

# ELEMENTOS FUNDAMENTAIS DOS FUNGOS

Os fungos são:

- o Organismos eucariontes, unicelulares (leveduriformes) ou multicelulares (filamentosos);
- o haploides (homo ou heterocarióticos);
- o Com parede celular contendo quitina e  $\alpha$ -glucano;
- o Não apresentam plastos ou pigmentos fotossintéticos.
- o Têm origem nos esporos (reprodução sexuada) ou conídios (reprodução assexuada), com poucas exceções;
- o Os esporos ou conídios, para germinarem, necessitam de calor e umidade e o resultado desta germinação é a formação de um ou mais filamentos finos, conhecidos como tubos germinativos.
- o Os filamentos simples ou ramificados que formam o micélio são denominados hifas.
- o As hifas, por sua vez, podem ser apocíticas (com septo) ou cenocíticas (sem septo).



- O ciclo de vida dos fungos compreende duas fases. Uma somática, caracterizada por atividades alimentares, e outra reprodutiva, onde os fungos podem realizar reprodução sexuada ou assexuada. Em ambos os casos, muitas estruturas são formadas, dependendo da espécie.
- As estruturas assexuadas, como também as sexuadas, podem ser formadas isoladamente ou em grupos, neste caso, formando corpos de frutificação.
- De acordo com tipo de reprodução realizada, os fungos podem ser divididos em três grupos:
  - . Holomorfo: aquele que no ciclo de vida realiza ambas as reproduções, sexuada e assexuada.
  - . Anamorfo: aquele que no ciclo de vida realiza apenas a reprodução assexuada.
  - . Teleomorfo: aquele que no ciclo de vida realiza apenas a reprodução sexuada.
- Os fungos são considerados seres heterotróficos, necessitando de materiais orgânicos já formados, que servem como fonte de energia e como constituintes celulares;
- Sua nutrição é por absorção de nutrientes solúveis simples;
- Realizam respiração celular ou fermentação para obtenção de energia, e sua reserva energética é sob a forma de glicogênio;
- Devido à ausência de clorofila nos fungos, torna-se necessário que o substrato forneça as substâncias já elaboradas indispensáveis à alimentação, obrigando os fungos a viverem em estado de saprofitismo, parasitismo, simbiose ou mutualismo. Eles podem ser subdivididos em:

- SAPRÓFITAS OBRIGATÓRIOS: vivem exclusivamente em matéria orgânica morta, não podendo parasitar organismos vivos.
  - PARASITAS FACULTATIVOS OU SAPRÓFITAS FACULTATIVOS: capazes de causar doenças ou de viver em restos orgânicos, de acordo com as circunstâncias.
  - PARASITAS OBRIGATÓRIOS: vivem exclusivamente atacando organismos vivos.
- o A temperatura ideal para o crescimento dos fungos fica entre 0 a 35°C, mas o ótimo para a maioria fica entre 20 a 30°C e a umidade ideal fica em torno da saturação.



# MICOLOGIA MÉDICA

Objetivo - estabelecer o diagnóstico micológico das infecções por fungos, que por sua vez se baseia em correta coleta e processamento de espécimes clínicos. A observação das normas de preservação, e transporte adequados dos materiais clínicos até os locais de processamento, como laboratório de Microbiologia/Micologia também tem enorme importância para a obtenção de resultados acurados.

Podemos dividir as micoses em grupos, como demonstrado a seguir:

**MICOSES SUPERFICIAIS** infecções causadas por fungos que invadem as camadas mais superficiais da capa córnea da pele ou a haste livre dos pelos. As lesões se manifestam como mancha pigmentar na pele, nódulo ou pelos. A forma invasiva do fungo é uma hifa, característica de cada micose, fazem parte deste grupo:

- o Pitiríase versicolor
- o Piedra preta
- o Piedra branca
- o Tinea nigra

**MICOSES CUTÂNEAS** caracterizam por serem causadas por fungos que invadem toda a espessura da capa córnea da pele ou a parte queratinizada intrafolicular dos pelos ou a lâmina ungueal. Na pele, as lesões se manifestam como mancha inflamatória, nos pelos como lesão de tonsura e na unha por destruição da lâmina ungueal. O contágio é feito através de animais, homens ou de solo infectado. Estão entre as micoses cutâneas:

- o Dermatofitoses
- o Dermatomicoses

**MICOSES SUBCUTÂNEAS** caracterizam por resultar da inoculação de um fungo patogênico por ocasião de um traumatismo, manifestando-se como tumefação ou lesão supurada da pele ou do tecido subcutâneo, produto da disseminação do fungo por contiguidade ou por via linfática, porém limitada ao território aquém do linfonodo regional. São micoses subcutâneas:

- o Esporotricose
- o Cromomicose
- o Lobomicose
- o Rinosporidiose

**MICOSES SISTÊMICAS** caracterizam por serem adquiridas por inalação de propágulos fúngicos, sendo, conseqüentemente a lesão primária pulmonar, com tendência à regressão espontânea. O fungo pode se disseminar pelo corpo através do sangue, originando lesões extrapulmonares nos indivíduos. Os agentes de micoses sistêmicas raramente são implantados traumáticamente; quando isso ocorre, determinam uma lesão granulomatosa circunscrita, com ou sem linfangite regional, que regride espontaneamente. São micoses sistêmicas:

- o Paracoccidiodomicose
- o Blastomicose
- o Histoplasmose
- o Coccidiodomicose

**MICOSES OPORTUNISTAS** causadas por fungos termotolerantes (que crescem a uma temperatura de 37°C), de baixa virulência e que determinam doenças em hospedeiros com graves deficiências do sistema imunodefensivo. Esses fungos têm porta de entrada variável, usualmente provocam reação supurativa necrótica. Podem acometer os mais variados órgãos, produzindo quadros polimórficos que se apresentam como manifestação cutânea, subcutânea ou sistêmica. Os fungos invadem os tecidos como uma hifa. São micoses oportunistas:

- o Criptococose
- o Candidíase

# LABORATÓRIO DE MICOLOGIA

O principal objetivo do laboratório de micologia é o isolamento e a correta identificação dos fungos patogênicos. O diagnóstico das micoses é realizado através da visualização do fungo nos espécimes clínicos (exame microscópico direto) e do seu cultivo em meios adequados.

O exame direto é uma análise primária da amostra, os métodos utilizados são: preparo e clarificação em KOH, pesquisa direta para *Cryptococcus* e colorações. Já as amostras para cultivos em micologia devem ser inoculadas em meios combinados que garantam o crescimento de todos os agentes de significado clínico.

A base para a identificação de um fungo, em geral, é feita pela associação de características clínicas, morfológicas MACROSCÓPICAS - cor, aspecto, textura da colônia, produção de pigmento difusível no meio, etc.), MICROSCÓPICAS - forma e cor da hifa, presença ou não de septos, tipo e arranjo de esporos e de velocidade de crescimento da colônia - lenta, moderada ou rápido.

O Laboratório de Micologia (MICOLAB), pertence à Universidade do Estado do Pará (UEPA), que tem por finalidade realizar análises laboratoriais em amostras biológicas, auxiliar o ensino e participar de pesquisas técnico científicas. Fazem parte desde laboratório: responsável técnico, técnico de laboratório, alunos de graduação de Biomedicina e farmácia e de pós graduação, nível mestrado e doutorado.

O MICOLAB faz parte do ambulatório de dermatologia do centro de saúde escola do Marco, localizado na cidade de Belém, Pará, Brasil.

A infraestrutura física do laboratório clínico e do posto de coleta devem atender aos requisitos da RDC/ANVISA nº. 50 de 21/02/2002, suas atualizações, ou outro instrumento legal que venha substituí-la. Nesse sentido, o laboratório atende os requisitos relacionados ao tamanho dos espaços pré-determinados, sendo a sala para coleta se for somente uma deve ter dimensão de  $3,6m^2$  e o laboratório de micologia  $6,0 m^2$ .

Os equipamentos disponíveis para funcionamento do laboratório de micologia são: estufa bacteriológica, autoclave, microscópio binocular, geladeira, forno microondas, cabine de segurança biológica e o Bico de Bunsen. Neste ambiente são realizados os seguintes ensaios: exame micológico direto (Hidróxido de Potássio - KOH), semeadura nos meios de cultura, microcultivo em lâmina.

# BIOSSEGURANÇA EM LABORATÓRIO

A biossegurança laboratorial é um conjunto de práticas, equipamentos e instalações voltadas para a prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes as atividades de prestação de serviços, pesquisas, produção e ensino, visando a saúde dos homens, a preservação do ambiente e a qualidade dos resultados.

O ambiente laboratorial tem sido considerado insalubre por agrupar atividades que requerem o uso de equipamentos, máquinas, reagentes e materiais diversos, além de viabilizar muitos procedimentos que oferecem riscos de acidentes e doenças para os usuários em geral. A Norma Regulamentadora (NR) nº 5 classifica os riscos ambientais em cinco grupos (Figura 1):

Figura 1: Classificação de Riscos Ambientais.

Substâncias, compostos ou produtos que possam penetrar no organismo do trabalhador pela via respiratória, nas formas de poeiras, fumos gases, neblinas, névoas ou vapores, ou que seja, pela natureza da atividade, de exposição, passam ter contato ou ser absorvido pelo organismo através da pele ou por ingestão

Arranjo físico inadequado, máquinas e equipamentos sem proteção, iluminação inadequada, eletricidade, animais peçonhentos, probabilidade de incêndio ou explosão, etc.

Diversas formas de energia a que possam estar expostos os trabalhadores, tais como: ruído, calor, frio, pressão, umidade, radiações ionizantes e não-ionizantes, vibração etc.

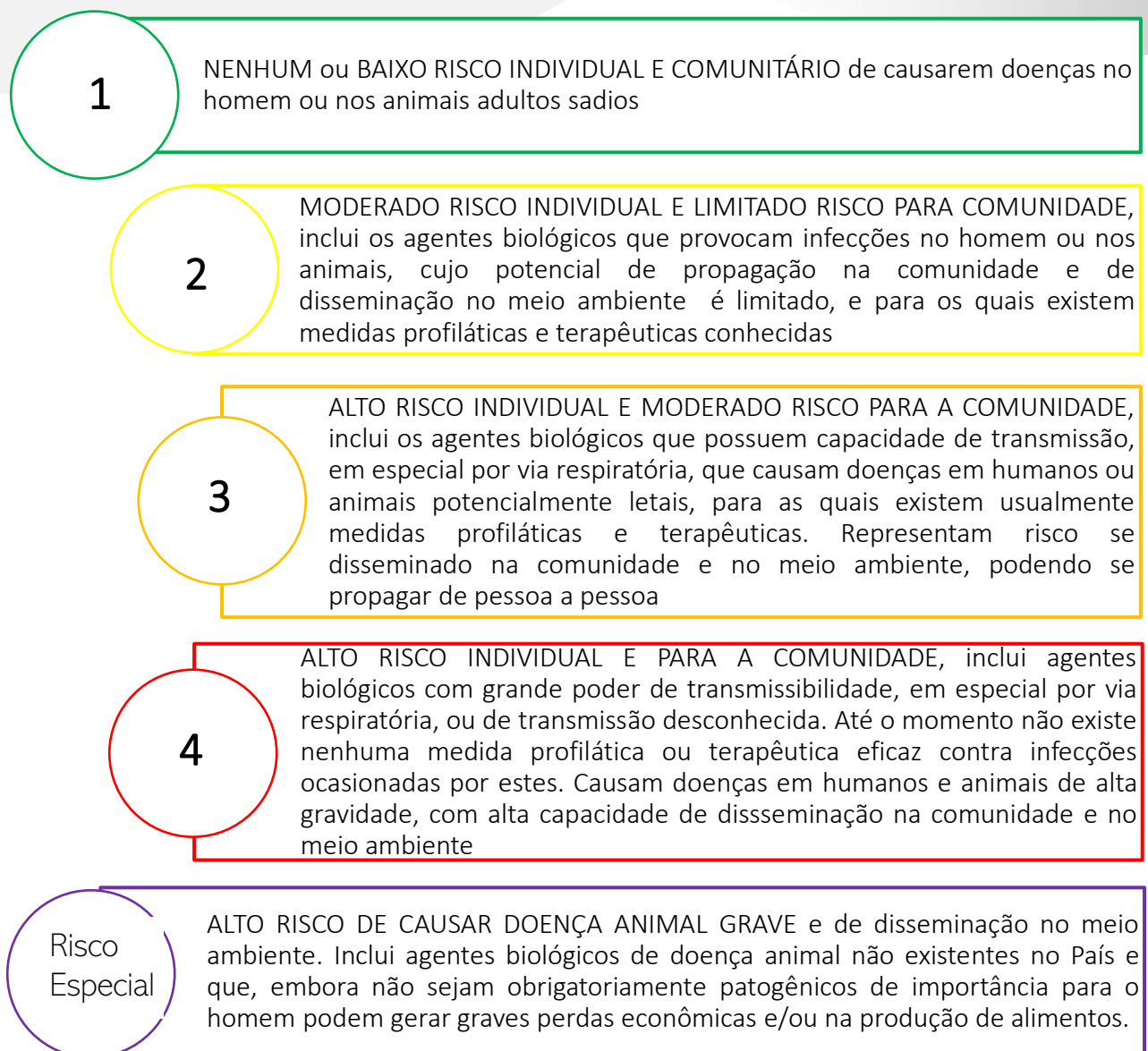
Bactérias, fungos, parasitas, vírus, entre outros.

Trabalho físico pesado, movimentos repetitivos, jornada prolongada, postura incorreta, tensões emocionais, monotonia, exigência de uma maior atenção, responsabilidade e concentração, jornadas longas de trabalho, treinamento inadequado ou inexistente, conflitos, etc.



Agentes biológicos que afetam o homem, os animais e as plantas são distribuídos em classes de risco assim definidos (figura 2)

Figura 2: Classes de Agentes de Risco Biológico.



Para a manipulação dos microrganismos pertencentes a cada uma das quatro classes de risco e/ou de risco especial devem ser atendidos alguns requisitos de segurança, conforme o nível de contenção necessário para permitir o trabalho com agentes biológicos de forma segura para os seres humanos, os animais e o ambiente.

Consiste na combinação de práticas e técnicas de laboratório, equipamentos de segurança e instalações laboratoriais. Existem quatro níveis de biossegurança, NB-1, NB-2, NB-3 e NB-4, (Figura 3) crescentes no maior grau de contenção e complexidade do nível de proteção.

Figura 3: Classificação dos Laboratórios, segundo NB

NB - 1

Onde são manipulados os microrganismos pertencentes a classe de risco 1.  
Laboratórios de ensino básico; não é requerida nenhuma característica de desenho, além de um bom planejamento espacial e funcional e a adoção de boas práticas laboratoriais.

NB - 2

Onde são manipulados microrganismos da classe de risco 2.  
Laboratórios clínicos ou hospitalares de níveis primários de diagnóstico, sendo necessário, além da adoção das boas práticas, o uso de barreiras físicas primárias (cabine de segurança biológica e equipamentos de proteção individual) e secundárias (desenho e organização do laboratório).

NB - 3

Onde são manipulados microrganismos da classe de risco 3 ou para manipulação de grandes volumes e altas concentrações de microrganismos da classe de risco 2; para este nível de contenção são requeridos além dos itens referidos no nível 2, desenho e construção laboratoriais especiais; deve ser mantido controle rígido quanto a operação, inspeção e manutenção das instalações e equipamentos e o pessoal técnico deve receber treinamento específico sobre procedimentos de segurança para a manipulação destes microrganismos.

NB - 4

Onde são manipulados microrganismos da classe de risco 4, onde há o mais alto nível de contenção, além de representar uma unidade geográfica e funcionalmente independente de outras áreas; esses laboratórios requerem, além dos requisitos físicos e operacionais dos níveis de contenção 1, 2 e 3, barreiras de contenção (instalações, desenho equipamentos de proteção) e procedimentos especiais de segurança.

O MICOLAB se enquadra no nível de biossegurança (NB-2), que envolve agentes de risco moderado para os profissionais e para o meio ambiente, em geral agentes causadores de doenças infecciosas (Classe de Risco II). As instalações exigidas devem atender as especificações estabelecidas para o NB-1 e NB-2.



# EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL (EPI)

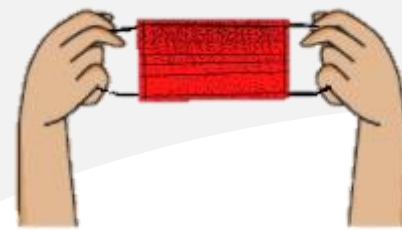
Considera-se EPI, todo dispositivo ou produto, de uso individual utilizado pelo trabalhador, destinado à proteção de riscos suscetíveis de ameaçar a segurança e a saúde física do trabalhador/estudante (NR 6 MTE).

**AVENTAL/ JALECO** : uso para todos que trabalham em ambiente laboratorial, confeccionado em algodão, com manga longa e punho sanfonado, na altura dos joelhos e usado abotoado. Não usar fora da área de trabalho, nem guardar junto com objetos pessoais.



**LUVAS**: uso para todos que trabalham em ambiente laboratorial, na manipulação de amostras biológicas, preparo de reagentes, lavagem de materiais, atendimento ao paciente. Descartar sempre que estiverem contaminadas ou quando sua integridade estiver comprometida. Podem ser de Nitrilica (usadas em trabalhos gerais, preparo de soluções, lavagem de materiais) e de latex ou silicone descartável ( usadas em procedimentos que necessitem de proteção contra material biológico. Devem ser desprezadas após uso).

**MÁSCARAS** : proteção de boca e nariz contra respingos e inalação de partículas em aerossol e substâncias químicas voláteis e tóxicas.



**GORROS/ TOUCA**: o uso de gorros ou toucas descartáveis proporciona barreira efetiva para o profissional, contra gotículas ou aerossóis, ou ainda queda de fios de cabelo sobre a superfície de trabalho.

**ÓCULOS DE PROTEÇÃO**: destinado à proteção dos olhos contra respingos de material biológico, substâncias químicas e partículas.

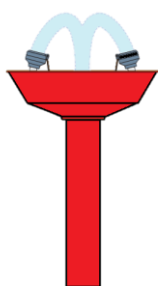
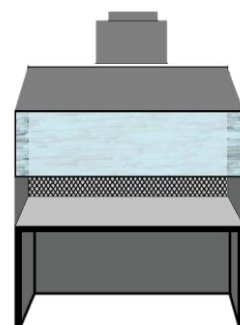


**SAPATOS**: são destinados proteção dos pés contra umidade, respingos, derramamentos e impactos de objetos diversos, devem ser fechados. Não sendo permitido o uso de tamancos, sandálias e chinelos em laboratório.

# EQUIPAMENTO DE PROTEÇÃO COLETIVA (EPC)

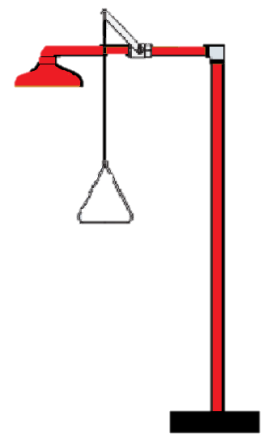
Considera-se EPC, todos os equipamentos que dizem respeito ao coletivo, devendo proteger todos os trabalhadores expostos a determinado risco.

**CABINE DE SEGURANÇA BIOLÓGICA:** é o principal equipamento de contenção física para agentes infecciosos. Protegem o material e o profissional, na manipulação de materiais biológicos altamente infectantes, substâncias tóxicas e cultura de células. Cumprir os prazos de revisão e troca de filtros. As cabines devem estar em local de pouco trânsito e distantes de portas.

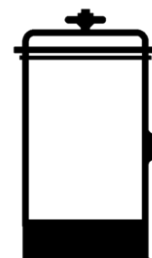


**LAVA-OLHOS:** usado quando ocorrem acidentes onde haja contato de material biológico ou substância química, com os olhos e/ou a face. Os profissionais devem estar treinados quanto ao seu uso e as orientações localizadas próximas ao equipamento. Manter o acesso facilitado.

**CHUVEIRO DE SEGURANÇA:** usados quando ocorrem acidentes com derramamento de grande quantidade de material biológico ou substância química sobre as roupas e pele do profissional, ou quando as roupas estiverem em chamas. Os profissionais devem ser treinados quanto ao seu uso e as orientações localizadas próximas ao equipamento. Manter o acesso facilitado.



**AUTOCLAVE:** esterilização por calor eficaz, tornando material infeccioso seguro para ser eliminado ou reutilizado.



# BOAS PRÁTICAS EM LABORATÓRIO CLÍNICO

- Proibido COMER, BEBER, FUMAR, GUARDAR ALIMENTOS E APLICAR COSMÉTICOS na área técnica.
- Prender os cabelos E EVITAR O USO DE BIJUTERIAS.
- É VEDADO o uso de calçados abertos (CHINELOS E SANDÁLIAS).
- Toda AMOSTRA BIOLÓGICA deve ser considerada POTENCIALMENTE CONTAMINADA.
- OBRIGATÓRIO o uso de EPIS.
- PROIBIDO PIPETAR COM A BOCA.
- Obrigatória a DESCONTAMINAÇÃO DAS BANCADAS DE TRABALHO ANTES E APÓS o desenvolvimento das atividades.
- NUNCA MANIPULAR MATERIAIS NÃO IDENTIFICADOS.
- SEGREGAR E ACONDICIONAR adequadamente resíduos biológicos, químicos e ionizantes.
- Depositar todo MATERIAL CONTAMINADO EM RECIPIENTES APROPRIADOS para autoclavação.
- HIGIENIZAR SEMPRE AS MÃOS.

# UTILIZAÇÃO DE CABINES DE SEGURANÇA

- o Ligar a cabine e a luz 10 a 15 minutos antes do uso.
- o Fechar as portas do laboratório e evitar circulação de pessoas durante o uso da cabine.
- o Colocar os equipamentos, meios de cultura, vidrarias etc. no plano de atividade da área de trabalho.
- o Limpar todos os objetos antes de introduzi-los na cabine e organizar os materiais de modo que não se misturem os itens limpos e contaminados.
- o Bicos de Bunsen não devem ser utilizados dentro da cabine, pois o calor pode acarretar danos ao filtro HEPA e interromper o fluxo laminar de ar, causando
- o Conduzir as manipulações no centro da cabine.
- o Minimizar os movimentos dentro da cabine.
- o Terminado o trabalho, a superfície de trabalho da cabine deve ser limpa com desinfetante apropriado.
- o Deixar a cabine ligada 10 a 15 minutos antes de desligá-la.
- o Fazer controle da contagem de tempo do uso das lâmpadas UV, e de utilização da cabine para fim de manutenção e troca do pré-filtro.

# HIGIENIZAÇÃO DAS MÃOS

Mãos contaminadas podem ser as principais vias de transmissão de infecção. O simples ato de lavar as mãos com água e sabão líquido, visando a remoção de bactérias transitórias e algumas residentes, como também células descamativas, pelos, suor, sujidades e oleosidade da pele, contribui para a diminuição do risco de infecção.

- o Abrir a torneira e molhar as mãos sem encostar-se à pia.
- o Ensaboar as mãos com sabão líquido. Friccionar as mãos por cerca de 30 segundos, realizando todos os movimentos a seguir:
  - a) fricção circularmente palma com palma;
  - b) fricção circularmente dorso com palma;
  - c) lavar os espaços interdigitais deslizando uma mão sobre a outra;
  - d) fricção as articulações de uma mão sobre a palma da outra;
  - e) lave o polegar com auxílio da outra mão;
  - f) fricção circularmente as unhas (pontas dos dedos) na palma da outra mão;
  - g) friccionar os pulsos com a palma da mão.
- o Enxaguar as mãos retirando todo o resíduo de sabão.
- o Enxugar as mãos com papel toalha e fechar a torneira utilizando o mesmo papel (se a torneira não for com acionamento automático). Torneiras manuais devem ser mantidas abertas até o término da lavagem das mãos.

# PROCEDIMENTOS EM CASO DE ACIDENTES

## Acidente com derramamento de Material Biológico

- Isolar a área atingida.
- Impedir a manipulação no local por pelo menos 30 minutos.
- Usar EPIs.
- Colocar papel toalha sobre o material derramado e sobre ele, solução de hipoclorito de sódio a 2%, ou cloro ativo, aguardar 15 minutos.
- Recolher em recipiente com saco para resíduo infectante ou saco autoclavável as toalhas de papel, luvas e todo material usado na descontaminação.
- Estilhaços de vidro ou plástico deverão ser recolhidos em caixa de perfurocortante.
- Refazer a descontaminação da área com solução de hipoclorito de sódio a 2%.



### **Acidentes fora da cabine de segurança com espécimes clínicos e culturas de fungos que não são potencialmente perigosos:**

- o Feche a ventilação da área e espere aproximadamente por 1 h antes de entrar até que os aerossóis possam ser depositados;
- o Vista um jaleco de mangas compridas, máscara, e luvas de borracha; cubra o material clínico ou a cultura quebrada com hipoclorito de sódio a 5% diluído a razão de 1:10 para obter uma concentração final de 5g/litro de cloro livre;
- o Mantenha a área molhada com o desinfetante por aproximadamente 1h antes de limpá-la;
- o Todos os equipamentos contaminados ou potencialmente contaminados devem ser desinfetados;
- o Após a desinfecção do local do acidente, autoclave e descarte todos os resíduos e os EPIs usados. Se as mãos entrarem em contato com o material contaminado, lave-as com sabão e água, ou álcool isopropílico a 70%, ou ambos.

### **Acidentes fora da cabine de segurança envolvendo fungos perigosos:**

- o Feche a ventilação da área e espere, aproximadamente, por 1 h antes de entrar na sala;
- o Vista um macacão ajustado nos pulsos, máscara, luvas e cubra os sapatos. Coloque na área do acidente hipoclorito de sódio a 5%. Espalhe o desinfetante ao redor do sítio do acidente, mas não diretamente sobre o derramado para não produzir aerossóis;
- o Coloque papel toalha embebida com o desinfetante sobre o derramado por 1h. A descontaminação com formol se faz necessária, quando se tratar de agentes da classe de risco 3;
- o Autoclave todos os materiais contaminados durante o acidente;
- o Limpe os equipamentos e acessórios do laboratório com hipoclorito de sódio a 5%.

### **Acidente com derramamento de Produtos Químicos**

- o Utilizar EPIs.
- o Conter o líquido derramado em área reduzida.
- o Cobrir o resíduo com vermiculina ou areia e aguardar sua absorção.
- o Recolher todo o resíduo e o material utilizado para limpar a área em saco plástico preto para posterior descarte.

# INSTRUÇÃO PARA A LIMPEZA E HIGIENIZAÇÃO DE BANCADAS E SUPERFÍCIES

As superfícies contaminadas podem servir como reservatório de agentes patogênicos, mas normalmente não são associadas diretamente à transmissão de infecções para Profissionais da Área da Saúde ou pacientes. Mesmo diminuindo o impacto dessa transmissão através da higienização das mãos, a realização da limpeza e desinfecção das superfícies é fundamental para a redução da incidência de infecções.

Os fatores que influenciam na escolha do procedimento de desinfecção das superfícies são:

- o natureza do item a ser desinfetado;
- o número de micro-organismos presentes;
- o resistência do micro-organismo aos efeitos do germicida;
- o quantidade de matéria orgânica presente;
- o tipo e concentração do germicida usado;
- o duração e temperatura do contato com o germicida;
- o as especificações e indicações de uso do produto pelo fabricante.

## Limpeza de bancada e superfícies

- o As superfícies das bancadas de trabalho são limpas e descontaminadas antes e após os trabalhos e sempre após algum respingo ou derramamento, sobretudo no caso de material biológico potencialmente contaminado e substâncias químicas.
- o O álcool a 70% (v/v) é um dos desinfetantes utilizado para descontaminação de bancadas.
- o Procedimento:
- o Imergir o produto no álcool ou friccioná-lo na superfície;
  - Deixar secar sozinho e repetir por 3 vezes

# COLETA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS

O tipo e a qualidade da amostra biológica, submetida ao laboratório de micologia, são fatores pré-analíticos extremamente importantes para o sucesso do isolamento e identificação do verdadeiro agente etiológico de infecções fúngicas. Para tanto, a coleta do material biológico, seu transporte e armazenamento adequados devem ser cuidadosamente considerados.

O correto diagnóstico laboratorial micológico também depende de outros aspectos como:

- o EXPERIÊNCIA DO PROFISSIONAL que vai executar o exame;
- o adequada COMUNICAÇÃO ENTRE OS CLÍNICOS, VIGILÂNCIA E LABORATÓRIO, essencial para direcionamento do tipo de amostra e quantidade a ser coletada;
- o cuidados de COLETA, FRASCOS E MEIOS UTILIZADOS PARA TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO das amostras;
- o IDENTIFICAÇÃO CORRETA DAS AMOSTRAS, incluindo a identificação do paciente, data de coleta, presunção de diagnóstico, para auxiliar no direcionamento das análises laboratoriais e tempo de resposta ao clínico pelo laboratório.

# RECOMENDAÇÕES GERAIS DE COLETA E TRANSPORTE DE AMOSTRAS

- A esterilização e desinfecção dos materiais necessários deverá ser realizada previamente, conforme recomendações específicas.
- Lavar as mãos e secá-las.
- As amostras devem ser identificadas com nome do paciente, número de registro, tipo de amostra e data da coleta, entre outras informações adicionais para auxiliar o laboratório no direcionamento dos exames.
- Coletar a amostra biológica após antissepsia e colocá-la em recipiente estéril e vedado, conforme orientação para pesquisa de agente, em quantidade suficiente (>2 mL ou 0,5 cm<sup>3</sup> ou duplicada) e no período de coleta apropriado, conforme especificação do agente em estudo, para permitir todos os procedimentos laboratoriais necessários.
- Os *swabs* são usados para coleta apenas para realização do exame cultura, de materiais tais como: ouvido, nasofaringe, orofaringe e boca. Esses devem ser colocados em tubos contendo salina estéril e devem ser transportados o mais rápido possível e/ou conservados a 4°C durante o prazo de 8 a 10 horas, de modo a evitar a dessecação da amostra;
- Os materiais ditos contaminados, tais como urina, fezes, pus, secreções de feridas ou trato respiratório, devem ser enviados, sob refrigeração a 4°C, ao laboratório, o mais rápido possível, até 18 horas;

- o Líquor e líquidos cavitários devem ser coletados sob cuidados de antisepsia antes da punção e enviados em tubo estéril selado hermeticamente e transportados o mais rápido possível, para assegurar o diagnóstico, mantidos à temperatura ambiente.
- o Sangue e material de punção de medula óssea são os únicos materiais biológicos que devem ser semeados diretamente, em frascos contendo meio de cultura líquido ou bifásico (líquido sobre sólido), de modo a evitar coagulação e consequente diminuição da sensibilidade do exame, o transporte deve ser em temperatura ambiente, entretanto encaminhar o mais rápido possível ao laboratório, uma vez que o processamento dessas amostras deve ser realizado em, no máximo, 8 a 9 horas.

### **Recomendações adicionais**

- o Sempre que possível, coletar amostras antes do início da terapia específica e, particularmente, para lesões cutâneas de pele e unhas, orientar o paciente para evitar uso de medicação tópica por 4 a 5 dias antes da coleta de escamas.
- o A requisição médica que acompanha a amostra deve conter, sempre que possível, as hipóteses diagnósticas que auxiliarão o micologista na escolha da coloração e do meio de cultura mais adequado para o isolamento do agente etiológico suspeitado.
- o Em pacientes imunodeprimidos ou muito debilitados o estudo de um mesmo tipo de amostra biológica, coletada em 2 ou 3 dias consecutivos, é importante para a interpretação correta de resultados positivos para fungos considerados como saprófitas, ou seja, contaminantes do meio ambiente, ou mesmo, constituinte da microbiota normal do paciente. Nesses pacientes, os fungos saprófitas podem se tornar oportunistas e o comportarem-se como patógenos.

# PROCEDIMENTOS PARA COLETA DE AMOSTRAS

Material Clínico	Procedimento de coleta
Escarro	Recolher, de preferência, a primeira expectoração da manhã, após gargarejo com água limpa ou fervida, em frasco de boca larga, esterilizado. Não deve conter saliva.
Aspirado gástrico	Aspirar cerca de 5 a 10 mL de suco gástrico, através de sonda nasogástrica, pela manhã, em jejum.
Aspirado traqueal e secreção obtida por broncoscopia	Procedimento realizado por médico treinado. O material colhido deve ser colocado em recipiente estéril.
Sangue e aspirado de medula óssea	Fazer antissepsia rigorosa no local da punção e coletar cerca de 5 a 6 mL de sangue venoso, que deverá ser injetado diretamente em frasco contendo no meio de cultura (ver detalhes no próximo ítem). A última gota de material deve ser distendida em uma lâmina de microscopia, para coloração de Giemsa.
Líquor	Fazer antissepsia rigorosa no local da punção. Coletar 2 mL ou mais, para exame microscópico e cultura para fungos. Os tubos na rotina hospitalar devem ser usados na seguinte sequência: 1a exame bioquímico, 2a exame de celularidade, 3a microbiológico, reduzindo assim a possibilidade de isolamento de contaminantes da pele. Entretanto, a coleta da amostra em tubos específicos para cada um desses exames aumenta a sensibilidade do exame micológico e, por isso, deve ser recomendada.
Tecido obtido por biópsia, necropsia e peças operatórias	Colher assepticamente, utilizando instrumentos estéreis e colocar o material em recipiente estéril, com salina. Não adicionar nenhum líquido fixador.
Urina	A amostra biológica mais apropriada para o diagnóstico de micose do trato urinário é obtida por sondagem ou citoscopia. Quando não for possível, e para evitar contaminação com microorganismos presentes nas áreas vizinhas, fazer limpeza prévia da região perineal com água e sabão, desprezar o primeiro jato de urina da manhã, e colher 3 a 5 mL de urina em frasco estéril. Coleções de 24 horas não têm valor para diagnóstico micológico.



Fezes	Fazer lavagem prévia da região anal com água e sabão, coletar porções de fezes em recipiente estéril com tampa ou <i>swab</i> anal, mergulhar o <i>swab</i> em salina estéril e enviar o tubo ao laboratório.
Secreção de conduto auditivo externo	Colher material por curetagem da lesão ou com <i>swab</i> estéril. Mergulhar o <i>swab</i> umedecido em salina estéril e enviar o tubo ao laboratório.
Material de Micose ocular	O melhor método para recuperação de fungos requer raspado de córnea, aspiração de líquido intra-ocular ou biópsia. A coleta com auxílio de <i>swab</i> não é indicada em local de drenagem.
Lesão de nariz e seios paranasais	Coletar secreção, material necrótico ou tecido obtido por biópsia em recipiente estéril.
Mucosa oral e orofaringe	Coletar com <i>swab</i> estéril o material de lesão de mucosa jugal, papilas linguais ou região tonsilar. Mergulhar o <i>swab</i> umedecido em salina estéril e enviar o tubo ao laboratório.
Secreção vaginal	Com auxílio de espéculo, coletar material da lesão ou do fundo de saco vaginal com <i>swab</i> estéril. Mergulhar o <i>swab</i> umedecido em salina estéril e enviar o tubo ao laboratório.
Líquidos corporais (pleural, ascítico, pericárdico e sinovial)	Fazer assepsia rigorosa no local da punção. Coletar cerca de 5 a 10mL de líquido em tubo de ensaio estéril.
Pus e material de abscesso	Devem ser colhidos de preferência, por aspiração de abscessos fechados, com seringa e agulha estéril. Se a lesão for aberta, limpar o local com gaze esterilizada embebida em salina estéril, para eliminar os exsudatos superficiais que são altamente contaminados com bactérias. A seguir, colher o material com <i>swab</i> . Mergulhar o <i>swab</i> umedecido em salina estéril e enviar o tubo ao laboratório.
Pele e pelos	Se possível, descontaminar a pele com álcool 70% antes da coleta. Raspar com lâmina de bisturi as escamas cutâneas da borda das lesões. Pode-se utilizar também uma lâmina de microscopia. Colocar o material entre duas lâminas limpas, de preferência esterilizadas, vedando-se as bordas das lâminas com fita adesiva para evitar perda do material. Os pelos tonsurados, devem ser retirados com pinça estéril e acondicionados entre lâminas ou em potes, de preferência esterilizados.
Unhas	Fazer limpeza prévia das unhas escovando com água e sabão. Cortar com tesoura e desprezar a parte descolada da unha e, com lâmina de bisturi, raspar as áreas mais profundas e pulverulentas. Colocar esse material entre lâminas e vedá-las.

# PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS

O sucesso na visualização e isolamento do agente etiológico depende, além da COLETA, TRANSPORTE, CONSERVAÇÃO E ARMAZENAMENTO ADEQUADOS e VOLUME SUFICIENTE DA AMOSTRA, DE SEU PROCESSAMENTO CORRETO ANTES DO EXAME MICOLÓGICO.

- o Pelos, cabelos, escamas de unha e pele devem ser aliquotadas para exame microscópico direto e cultura, pois para exame são clarificadas com solução aquosa de KOH a 20% e, para cultura, não podem sofrer nenhum tratamento prévio, sendo por isso, inoculadas diretamente na superfície do meio de cultura;
- o Líquor, secreções e fluídos corporais como líquido pleural, ascítico, sinovial, pericárdico, aspirado transtraqueal, lavado gástrico e broncoalveolar (BAL) devem ser concentrados por centrifugação (1500 a 2000 rpm por 10 minutos). Os materiais coletados com *wabs* devem ser eluídos em solução salina e devem ser centrifugados. O sedimento obtido é o material adequado para o exame microscópico e semeadura.
- o Para urina, é recomendável que uma alíquota (alça calibrada) seja semeada, por esgotamento, sobre o meio de cultura distribuído em placa de Petri, para exame quantitativo, pela contagem de unidades formadoras de colônias (UFC). A outra alíquota deve ser centrifugada (1500 a 2000 rpm por 10 minutos) e o sedimento

será utilizado para exame microscópico e nova semeadura em tubo (cultura qualitativa).

- o Escarro pode ser digerido com enzima (v/v) N-acetil-L-cisteína (250 mg de enzima dissolvidas em 1 L de solução-tampão citrato ou solução fisiológica), que fluidifica e facilita a manipulação da amostra e formação de sedimento após centrifugação. Pode-se utilizar, como alternativa, para digestão da amostra, solução de KOH 20%. A porção purulenta da amostra é preferível e porções liquefeitas não são adequadas para isolamento do agente. A porção da amostra tratada com KOH, porém, só pode ser usada para exame microscópico, pois a potassa destrói, após algumas horas, as estruturas do fungo, inviabilizando seu isolamento em meio de cultura. Nesse caso, outra porção da amostra deve ser centrifugada e o sedimento usado para cultura.
  
- o Tecidos obtidos por biópsia requerem fragmentação, com o auxílio de um bisturi estéril ou maceração (gânglio) com pistilo em almofariz; pode ser feito dentro de uma placa de Petri estéril. Esse procedimento visa aumentar a área de superfície e expor o micro-organismo ligado ao tecido, ao maior contato com o meio de cultura.
  
- o Sangue e aspirado de medula óssea não necessitam preparação, sendo que o exame microscópico tem baixa sensibilidade e, portanto, a cultura é importante para identificação do agente. Para cultura, as amostras são semeadas imediatamente, após a coleta, em frascos contendo meio de cultura. O meio pode ser bifásico (15 mL de ágar inclinado sob 50 mL de caldo) composto de infusão de cérebro- coração (meio BHI) ou Sabouraud. Meios contendo saponina para lise e posterior centrifugação da amostra são indicados. Na prática, frascos para hemocultura bacteriológica (simples ou automatizada) proporcionam isolamento adequado de fungos, desde que respeitados os períodos necessários ao seu desenvolvimento. Para fungos dimórficos, de crescimento lento (>15 d), muitos autores consideram o método de lise-

centrifugação o mais sensível. Sangue e medula óssea não devem ser coletados em seringas contendo EDTA, pois essa substância se combina com elementos da parede dos fungos, diminuindo a sensibilidade do exame. Um dos procedimentos recomendados é a inoculação de 5 a 6 mL da amostra no frasco com meio bifásico sendo uma parte para 10 partes do meio líquido, que deve ser então incubado à temperatura de 30°C.

# ROTINA DE DIAGNÓSTICO

A observação de um fungo na amostra biológica tem grande valor diagnóstico, pois demonstra sua presença no tecido e permite uma informação imediata ao médico, a qual pode ser crucial para determinar a terapia apropriada ao paciente.

O exame microscópico da amostra é realizado por várias técnicas, dependendo do tipo da amostra e suspeita clínica.

- **Exame microscópico direto com hidróxido de potássio (KOH) a 10-40%**

No exame direto da amostra biológica, a estrutura fúngica pode ser confundida com resquícios de material celular de consistência fibrosa, proteinácea ou pigmentada. O KOH consegue dissolver as estruturas teciduais e clarear os pigmentos sem alterar as estruturas fúngicas, tornando as células fúngicas visíveis.

Procedimento:

- o Colocar uma gota de KOH em uma lâmina de microscopia;
- o Adicionar sobre a gota uma alíquota ou fragmento da amostra clínica;
- o Misturar bem, com a alça de platina e, se necessário, promover o desbridamento do material com uma lâmina de bisturi estéril;
- o Cobrir a preparação com uma lamínula e a pressionar suavemente com a base de uma alça de metal, para alcançar uma monocamada de células;

- o Deixar a montagem em repouso por 10 a 30 minutos à temperatura ambiente para clarificar o material ou acelerar o processo por maceração por meio de rápidas passagens da preparação sobre a chama do bico de Bunsen.
- o Examinar em microscópio óptico comum, inicialmente, com objetiva de 10x, seguida de 40x.

- **Exame microscópico direto com Lactofenol azul-algodão (Lactofenol de Amann)**

Tem a finalidade de visualizar o micélio vegetativo e reprodutor de um fungo filamentoso, bem como as características da célula vegetativa e reprodução por brotamento de leveduras.

Procedimento:

- o Colocar uma gota de lactofenol azul- algodão sobre a lâmina;
- o Retirar pequeno fragmento da cultura do fungo filamentoso ou levedura, utilizando alça ou fio de platina e colocar sobre a gota de lactofenol e homogeneizar;
- o Cobrir com uma lamínula e examinar ao microscópio nas objetivas de 10 e 40x.

- **Exame microscópico direto com tinta nanquim (tinta da China)**


Utilizado em amostras de líquor, urina, secreções ou exsudatos, para visualização de leveduras capsuladas do gênero *Cryptococcus*, que se tornam mais evidentes contra o fundo negro proporcionado pela tinta.

Procedimento:

- Colocar uma gota de tinta nanquim e uma gota do sedimento da amostra centrifugada sobre uma lâmina;
- Cobrir a preparação com lamínula e aguardar por 10 minutos para permitir a acomodação das estruturas;
- Examinar com objetivas de baixo e alto poder e com média a forte intensidade luminosa.

- **Cultura**

Após o exame microscópico direto, a CULTURA É NECESSÁRIA PARA O ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DO FUNGO. O meio de cultura pode ser selecionado segundo tipo de amostra e agente etiológico, conforme a suspeita clínica. De acordo com os aspectos observados ao exame microscópico da amostra, pode-se ainda redirecionar o procedimento para isolamento do agente.



O meio básico em laboratório de micologia é o ágar Sabouraud dextrose (ASD), chamado simplesmente, ágar Sabouraud. O ASD é o meio mais utilizado, por ser relativamente barato e permitir o crescimento de todos os fungos, com raríssimas exceções. Em regra, usa-se um antibiótico para impedir o crescimento de bactérias, fungos oportunistas e leveduras que poderiam prejudicar o isolamento de fungos. O cloranfenicol é o mais indicado, pois resiste à autoclavação. Pode ser colocado tanto no ASD como em outros meios de cultura para fungos. O meio de cultura pode ser preparado tanto em placa quanto em tubo.

Para isolamento ou subcultivo de dermatófitos recomenda-se o ágar batata, encontrado no comércio, sob forma desidratada, para aumentar a esporulação e facilitar a identificação do gênero e espécie do fungo.

Para fungos dimórficos, de crescimento lento ( $> 15$  dias), recomenda-se o uso de meios enriquecidos como o ágar infusão de cérebro-coração (BHI) para obtenção, em menor tempo, de culturas melhor desenvolvidas. Pode ser acrescido de 5 a 10% de sangue de carneiro e de antibióticos (de preferência, cloranfenicol ou penicilina e estreptomicina).

Procedimento:

- o A semeadura é feita usando uma alça bacteriológica
- o Inoculando-se o material sobre o meio de cultura em pontos equidistantes, deverá ser semeada em movimentos de estrias (zig-zague) sobre a superfície de meios sólidos de cultura.



- **Cultura em lâmina**

A cultura em lâmina é necessária quando o exame direto e/ou a cultura não forem suficientes para o diagnóstico definitivo do fungo em questão. Essa técnica permite a observação das estruturas fúngicas vegetativas e de esporulação em sua integridade.

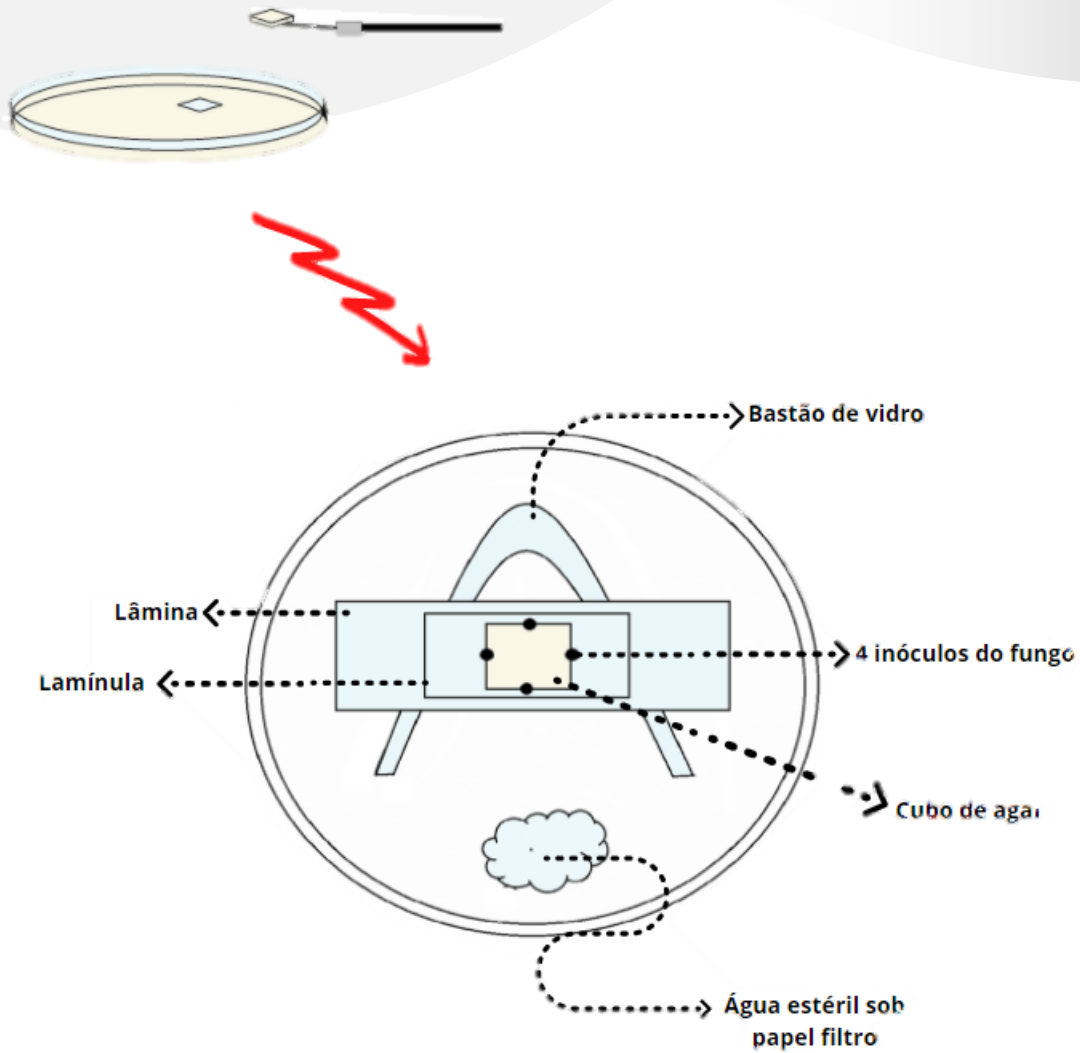
### **Preparo das placas de Petri para o cultivo em lâmina**

- o Forrar o fundo da placa com papel filtro
- o Introduzir em cada placa um suporte para a lâmina, como um bastão de vidro encurvado em forma de U, uma lâmina ou outro; uma lâmina e uma lamínula de microscopia;
- o Esterilizar em forno Pasteur

Procedimento:

1. Umedecer o papel de filtro da placa com águas estéril;
2. Liquefazer o ágar dextrose batata em banho-maria;
3. Em uma placa de Petri 10 x 20 esterilizada, verter 15 mL do meio de cultivo liquefeito e deixar solidificar.
4. Cortar o meio já solidificado em pequenas porções de 1 cm<sup>2</sup>, com o auxílio de pequena espátula ou bisturi, previamente flambada e em número suficiente para os cultivos das amostras;
5. Com o próprio bisturi ou espátula, transferir as porções do meio de cultivo para a superfície central da lâmina de microscopia, disposta sobre o bastão de vidro;
6. Semear pequenos fragmentos da colônia nos extremos do meio de cultivo, cobrindo com a lamínula, com o auxílio de pinça previamente flambada. Cobrir a placa de Petri com a tampa;

7. Incubar a placa entre 25° e 30° C;
8. Controlar pelo exame microscópico se há suficiente desenvolvimento miceliano e esporulação do fungo na lâmina.



# CORANTES E MEIOS DE CULTURA MAIS UTILIZADOS

A coloração é um meio utilizado em laboratórios de Micologia com o objetivo de visualizar estruturas vegetativas e reprodutivas dos fungos, as formas de leveduras, e realizar testes de viabilidade. As soluções utilizadas são:

## a) Solução de hidróxido de potássio. KOH (solução clarificante)

Fórmula (para solução 40%):

KOH em lentilhas	40g
Água destilada	60 mL

Dissolver os dois ingredientes em movimentos giratórios, até a total dissolução dos componentes. A solução deve ficar transparente. Armazenar em vidro escuro.

## b) Lactofenol de Amann com azul de algodão - usado para tornar mais distintas as estruturas hialinas dos fungos (corante citoplasmático)

Ácido fênico	20g
Ácido láctico	20g
Glicerina	40g
Água destilada	20mL
Azul de Poirrierblau	0,05g

Misturar todos os componentes e dissolver pelo calor. Depois adicionar 0,05g de azul de Poirrierblau. Esperar 24 horas e filtrar.

- **Ágar Sabouraud Dextrose (ASD)**

Trata-se de um meio ácido e nutricionalmente pobre. Nessas condições impede o desenvolvimento de bactérias; entretanto fungos oportunistas e alguns patogênicos crescem sem maiores problemas.

Dextrose	20-40g
Peptona	10g
Ágar	20g
Água destilada	1000mL

Misturar os ingredientes na água destilada e aquecer para dissolver. Dispensar em tubos/placas e autoclavar a 121°C, por 15 minutos. Em caso de tubos inclinar e deixar solidificar

- **Caldo Sabouraud dextrose (CSD)**

Trata-se do mesmo meio, entretanto sem adição de ágar.

Dextrose	20-40g
Peptona	10g
Água destilada	1000mL

Misturar os ingredientes na água destilada e aquecer para dissolver. Dispensar em tubos/placas e autoclavar a 121°C, por 15 minutos.

- **Ágar ou Caldo Sabouraud Dextrose com Clorofenicol**

Trata-se de ágar ou caldo sabouraud acrescido de um potente anti-bacteriano.

Glicose	20g
Peptona	10g
Ágar	20g
Água destilada	1000mL
Cloranfenicol	100 a 200 mg

Dissolver 100 mg de clorafenicol em 10 mL de álcool 95°. Adicionar em um litro de ASD antes da autoclavação.
---

- **Ágar semente de níger**

Meio recomendado para o isolamento quando o agente suspeito for do gênero *Cryptococcus*. A produção de colônias negras auxilia no reconhecimento dessa levedura.

Glicose	1g
Extrato de semente de níger	200mL
Cloranfenicol	50mg
Gentamicina	40mg
Difenil	10 mL
Ágar	20g
Água destilada	800mL

PREPARO DO EXTRATO DE NÍGER: triturar 70g de semente (alpiste) em liquidificador, ressuspensando em 350 mL de água destilada, para autoclavar a 121° C por 15 minutos. Na sequência, o conteúdo deve ser filtrado em gaze por três vezes até que a mistura fique aparentemente homogênea.

PREPARAÇÃO DO MEIO: dissolver a quantidade proporcional de ágar puro para misturar ao extrato de níger. Em seguida deve ser aquecido rapidamente (em torno de três minutos) em forno micro-ondas para dissolver o ágar com extrato de níger para obter uma mistura homogênea. Finalmente, autoclavar a mistura a 121° C, por 15 minutos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARAÚJO, E. M & VASCONCELOS, S. D. Biossegurança em Laboratórios Universitários: um Estudo de Caso na Universidade Federal de Pernambuco. Rev. bras. Saúde ocup, v.29, n.110, 2004.
2. BRASIL. Ministério da Saúde. Classificação de risco dos Agentes Biológicos. Brasília: Editora MS, 2006.
3. BRASIL. Biossegurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. 3.ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.
4. BARBOSA, C. M. et al. A importância dos procedimentos operacionais padrão (POPs) para os centros de pesquisa clínica. Rev Assoc Med Bras [Internet], v. 57, n. 2, p. 134-5, 2011.
5. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 1: Biossegurança e Manutenção de Equipamentos em Laboratório de Microbiologia Clínica/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília: Anvisa, 2013.
6. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 8: Detecção e identificação de fungos de importância médica /Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília: Anvisa, 2013.
7. BRASIL. Ministério da Saúde. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução – RDC nº 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos. Disponível em: <http://elegis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=19176>, acesso em: 25 de maio. 2019.
8. BRASIL. Ministério da Saúde. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº. 50, de 21 de fevereiro de 2002. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para planejamento, programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde. Disponível em: <https://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/legislacao/item/rdc-50-de-21-de-fevereiro-de-2002>. Acesso em: 25 maio. 2019.

9. BRASIL. Ministério da saúde. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº. 222, DE 28 DE MARÇO DE 2018. Regulamenta as Boas Práticas de Gerenciamento dos Resíduos de Serviços de Saúde e dá outras providências. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3427425/RDC\\_222\\_2018\\_.pdf/c5d3081d-b331-4626-8448-c9aa426ec410](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3427425/RDC_222_2018_.pdf/c5d3081d-b331-4626-8448-c9aa426ec410). Acesso em 10 de agosto.2019
10. DA FIOCRUZ, C. T. D.B. Procedimentos para a manipulação de microorganismos patogênicos e/ou recombinantes. Rio de Janeiro,2005.
11. FARIA, V. A., DE SENA BADARÓ, M. L., RODRIGUES, E., HODJA, R., MENDES, M. E., & SUMITA, N. M. Perigos e riscos na medicina laboratorial: identificação e avaliação. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 47(3), 2011.
12. FIOCRUZ 2019- Reportagem da Radis alerta para o avanço dos fungos no Brasil; Disponível em: <https://agencia.fiocruz.br/reportagem-da-radis-alerta-para-o-avanco-dos-fungos-no-brasil> . Acesso em: 25 maio. 2019.
13. HIRATA, M. H.; & MANCINI FILHO, J. Manual de Biossegurança. São Paulo: Manole, 2002.
14. KARRAY M, MCKINNEY WP. Tinea, Versicolor. *StatPearls*, StatPearls Publishing, 2018. PubMed, Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482500/>>. Acesso em 10/05/2019.
15. MEZZARI, A., & FUENTEFRIA, A. M. Micologia no laboratório clínico. São Paulo, 2014.
16. MOLINARO, E. M ; CAPUTO, L. F. G; AMENDOEIRA, M. R. R. Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde, v. 4. 2009.
17. ORGANIZAÇÃO NACIONAL DE ACREDITAÇÃO (ONA) – NA4: Avaliação de Organizações Prestadoras de Serviços de Laboratório Clínico. 2003.
18. PENNA, P.M.M. Biossegurança: uma revisão. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.77, n.3, p.555-465, 2010.
19. RAYMUNDO, V. P. Construção e validação de instrumentos: um desafio para a psicolingüística. *Letras de Hoje*, Porto Alegre, v. 44, n. 3, p. 86-93, jul./set. 2009.



20. RODRIGUES, N. R., SOUZA, A. P. F. D., & WATANABE, M. Implantação e implementação das normas das Boas Práticas Laboratoriais (BPL) no Laboratório de Análises de Resíduos da Universidade Estadual de Campinas. Química Nova, 2012.
21. SANGIONI, L. A., PEREIRA, D. I. B., VOGEL, F. S. F., & DE AVILA BOTTON, S. Princípios de biossegurança aplicados aos laboratórios de ensino universitário de microbiologia e parasitologia. Ciência Rural, 2013.
22. SANTOS, P. E. Boas Práticas de Laboratório (BPL),—Uma questão de qualidade. Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade, 2010.
23. SIDRIM, J. J. C., & ROCHA, M. F. G. Micologia médica à luz de autores contemporâneos. Guanabara Koogan, 2004.
24. SKARABA, I; NICKEL, R.; WOTKOSKI, S. R. Barreiras de contenção: EPIs e EPCs. In: MASTROENI, M. F. Biossegurança: aplicada a laboratórios e serviços de saúde . São Paulo: Atheneu, 2004.

## Créditos Editoriais

### Título:

Manual de Boas Práticas para o laboratório de de micologia do ambulatório de dermatologia do centro de saúde escola do Marco, Belém/Pará

### Autores:

Alana Luanni Messias da Silva  
Mioni Thieli Figueiredo Magalhães de Brito

### Revisão Científica:

Alana Luanni Messias da Silva  
Mioni Thieli Figueiredo Magalhães de Brito

### Contato com a Autora:

[alana.luanii@gmail.com](mailto:alana.luanii@gmail.com)

### Edição de arte:

Mayara Nerina Fortes Arthur

[mayaranerina@gmail.com](mailto:mayaranerina@gmail.com)