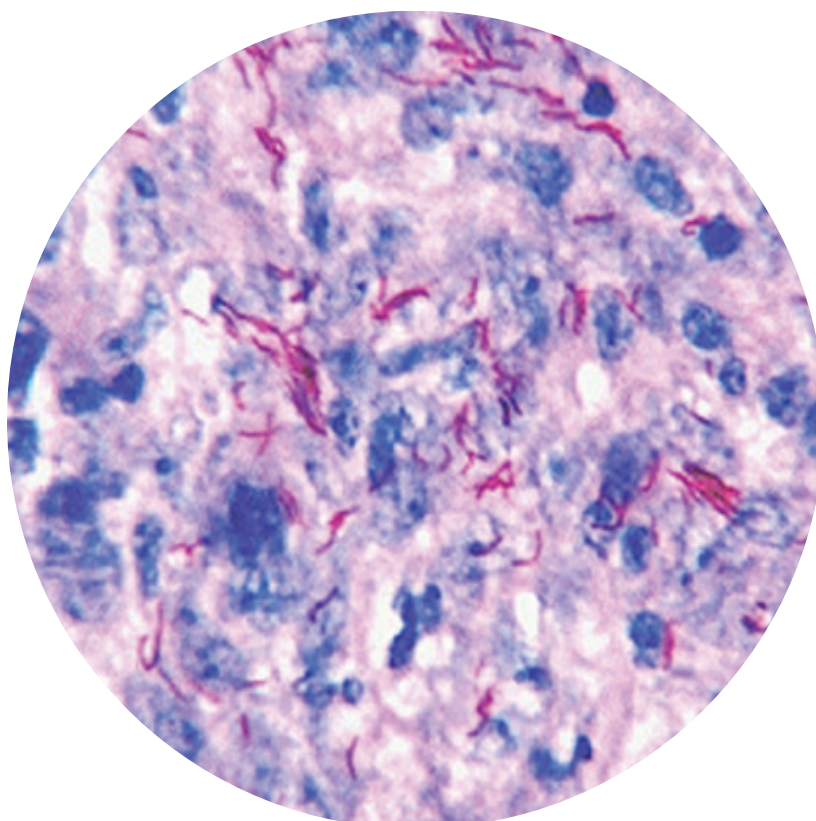




REPÚBLICA DE MOÇAMBIQUE
MINISTÉRIO DA SAÚDE

PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLO DA TUBERCULOSE
INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE

Manual de Baciloscopia da Tuberculose



Maputo, 2012



REPÚBLICA DE MOÇAMBIQUE
MINISTÉRIO DA SAÚDE
PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLO DA TUBERCULOSE
INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE

Manual de Baciloscopia da Tuberculose

Maputo, 2012

FICHA TÉCNICA

*Programa Nacional de Controlo da Tuberculose – PNCT
Instituto Nacional de Saúde – INS – Laboratório Nacional de Referência da Tuberculose – LNRT*

Título: *Manual de Baciloscopia da Tuberculose*

Coordenação:

Egídio Langa – Chefe do PNCT

Eduardo Samo Gudo - Chefe do departamento da rede de laboratórios e serviços de referência - INS

Elizabeth Coelho – Chefe Nacional das Baciloscopias

Sofia Viegas – Coordenadora dos Laboratórios de Referência da Tuberculose

Autores:

Esmeraldo Ezembro – Biólogo – LNRT/INS

Khalid Azam – Biólogo – Responsável do LNRT/INS

Nureisha Cadir – Bióloga – Responsável Interina do LNRT/INS

Colaboradores:

Zaina Cuna – Médica – PNCT

Carla Madeira – Bióloga – LNRT/INS

Cátia Bila – Bióloga – LNRT/INS

Irene Gune – Bióloga – LNRT/INS

Salomão Maungate – Técnico Superior N1 – LNRT/INS

Mercedes Fernandes – Técnica de laboratório – LNRT/INS

Leonel Fernando – Técnico de laboratório – LNRT/INS

João Manuel – Técnico de laboratório – LNRT/INS

Joaquim Dimande – Técnico de laboratório – LNRT/INS

Josefa Melo - Bióloga – FHI360

José Machado Almeida – Biólogo – FHI360

Tiragem:

Editor: *Ministério da Saúde/PNCT & INS*

Apoio: *Family Health International (FHI 360)*

Concepção Gráfica: *DesignPrint*

Prefácio

A tuberculose constitui um sério problema de Saúde Pública em Moçambique, sendo uma das principais causas de morbilidade e mortalidade da população. Dentre os grupos mais vulneráveis destacam-se os adultos jovens entre os 15 a 49 anos de idade, as crianças com menos de cinco anos e as pessoas vivendo com o HIV/SIDA.

O controlo efectivo da tuberculose depende de uma boa rede de laboratórios com a finalidade de detectar os casos bacilíferos, monitorar a evolução de tratamento e emitir resultados de cura no fim do tratamento por meio de exame microscópico (baciloscopia).

O presente manual apresenta as directrizes essenciais para a estrutura e funcionamento das actividades de diagnóstico laboratorial da tuberculose, com o objectivo de orientar os técnicos dos laboratórios na organização da rede de laboratórios, biossegurança e diagnóstico da tuberculose por meio da biciloscopia.

Portanto, é uma ferramenta imprescindível para que todos os laboratórios funcionem de forma padronizada para o êxito das actividades do programa Nacional de Combate à Tuberculose.

Dr. Alexandre L. Manguela



Ministro da Saúde

AGRADECIMENTOS

*Os autores agradecem a Dra. Paula Samo Gudo e a todos os colaboradores, revisores e aqueles que directa ou indirectamente contribuíram para que esta publicação se tornasse possível.
Um agradecimento especial ao Projecto TBCARE I da FHI360 pelo apoio na impressão do manual.*

LISTA DE ACRÓNIMOS

BAAR	<i>Bacilo – Álcool – Ácido - Resistente</i>
BK	<i>Bacilo de Koch</i>
EPI	<i>Equipamento de Protecção Individual</i>
FHI	<i>Family Health Internacional</i>
HIV	<i>Vírus de Imunodeficiência Humana</i>
INS	<i>Instituto Nacional de Saúde</i>
LCR	<i>Líquido Cefalo - Raquidiano</i>
LNRT	<i>Laboratório Nacional de Referência da Tuberculose</i>
MISAU	<i>Ministério da Saúde</i>
PNCT	<i>Programa Nacional de Controlo da Tuberculose</i>
PPD	<i>Derivado Proteico antigénico do bacilo purificado</i>
SIDA	<i>Síndrome de Imunodeficiência Adquirida</i>
TB	<i>Tuberculose</i>
UV	<i>Raios Ultravioletas</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

ÍNDICE

01.	INTRODUÇÃO.....	01
02.	CLASSIFICAÇÃO DA TUBERCULOSE.....	02
03.	O AGENTE ETIOLÓGICO DA TUBERCULOSE.....	03
3.1.	Funções dos organelos celulares.....	03
3.1.1.	Parede celular das micobactérias.....	04
04.	MODOS DE TRANSMISSÃO DO BACILO DA TUBERCULOSE.....	05
4.1.	Risco relativo por exposição a um caso infeccioso de tuberculose.....	05
4.2.	Grau de risco no laboratório.....	06
05.	MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA TUBERCULOSE.....	06
06.	MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DA TUBERCULOSE.....	07
07.	A BACILOSCOPIA.....	07
7.1.	Indicações para a realização da baciloscopia.....	08
7.2.	Importância da baciloscopia.....	08
7.3.	Variação da curva de baciloscopia ao longo do tratamento.....	08
7.4.	Tipos de amostras no diagnóstico laboratorial da tuberculose.....	09
7.5.	Factores que determinam bons resultados da baciloscopia.....	10
7.6.	Factores que afectam negativamente nos resultados da baciloscopia.....	10
7.7.	Colheita de amostras de expectoração.....	10
7.7.1.	Instruções para a colheita de expectoração.....	11
7.7.2.	Local ideal para a colheita.....	12
7.7.3.	Vantagens da colheita de amostra imediata.....	12
7.7.4.	Desvantagens da colheita de amostra imediata.....	12
7.7.5.	Biossegurança na colheita de amostras.....	13
7.8.	Conservação das amostras.....	13
7.9.	Transporte de amostras.....	13
7.9.1.	Paciente.....	13
7.9.2.	Profissional de saúde.....	14
7.10.	Fluxo de envio de amostras aos Laboratórios de Referência da Tuberculose.....	14
7.11.	Recepção das amostras.....	15
08.	PROCEDIMENTOS TÉCNICOS DA BACILOSCOPIA.....	16
8.1.	Organização da bancada e do material.....	16
8.2.	Marcação de lâminas.....	16
8.2.1.	Lâminas de extremidades foscas.....	16
8.2.2.	Lâminas de extremidades lisas (não foscas).....	16
8.3.	Preparação de esfregaço.....	16
8.4.	Secagem e fixação de esfregaços.....	17

8.5.	Coloração do esfregaço - Método de Ziehl-Neelsen.....	18
8.6.	Uniformidade do esfregaço.....	18
8.7.	Observação microscópica de esfregaço.....	19
8.7.1.	Técnica de contagem e leitura de lâminas.....	19
8.7.2.	Mudança de campo microscópico.....	20
8.8.	Emissão de resultados.....	20
8.9.	Registo de resultados.....	21
09.	PREPARAÇÃO DOS REAGENTES ZIEHL-NEELSEN.....	21
9.1.	Material e reagentes necessários.....	21
9.2.	Especificações e correção da pureza do corante (em pó).....	22
9.3.	Qualidade da água.....	23
9.4.	Preparação de fucsina a 0.3%.....	23
9.5.	Preparação de azul de metileno a 0.3%.....	23
9.6.	Preparação da solução de descoloração.....	24
9.7.	Solução de descoloração alternativa.....	25
9.8.	Controlo de qualidade dos reagentes de colorações.....	25
9.9.	Rotulagem e armazenamento de reagentes.....	25
9.10.	Substâncias químicas usadas nos laboratórios da tuberculose como reagente ou desinfectante (Tabela 1).....	26
10.	O MICROSCÓPIO ÓPTICO COMPOSTO.....	27
10.1.	Composição do microscópio óptico composto.....	27
10.2.	Cuidados e manutenção do microscópio.....	28
11.	EXERCÍCIOS DE APLICAÇÃO.....	29
	Guia de Correção dos Exercícios.....	39
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA.....	43

1. INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença infecto-contagiosa de amplitude mundial, causada pelos membros do género Mycobacterium, que acomete a humanidade desde a antiguidade (Iseberg, 2004; Viveiros e Atouguia, 2007).

A transmissão da forma mais comum de TB, a pulmonar, ocorre pela emissão de bacilos durante a fala, espirro ou tosse. Portanto, quanto maior o número de pessoas com expectoração bacilífera na comunidade, maior será a probabilidade de disseminação da TB (Ministério da Saúde, 2007; Ministério da Saúde, 2008).

Cerca de um terço da população mundial está infectada pela TB (WHO, 2003; Gueiter, 2007; Dye, 2006), ocorrendo anualmente cerca de nove milhões e oitocentos novos casos e quase quatro mil e quinhentos mortes no mundo. Apontam-se como factores que contribuem para este cenário: o baixo nível económico das populações, a emergência da pandemia do HIV/SIDA, e o surgimento de estirpes multiresistentes aos fármacos, particularmente à Rifampicina e Isoniazida (Campelo et al., 2001; Cobertt et al. 2003; Ministério da Saúde, 2007)

O controlo efectivo da TB depende de vários factores, dentre eles, a detecção precoce dos casos. Portanto, apesar de existirem vários métodos de diagnóstico da TB, a baciloscopia pelo método de Ziehl-Neelsen continua sendo o método mais acessível por ser um exame simples, rápido, barato, e não necessitar de pessoal técnico altamente qualificado para a sua execução (Campelo et al., 2001; Takao et al. 2005; Keeler, 2006 e Ministério da Saúde, 2008).

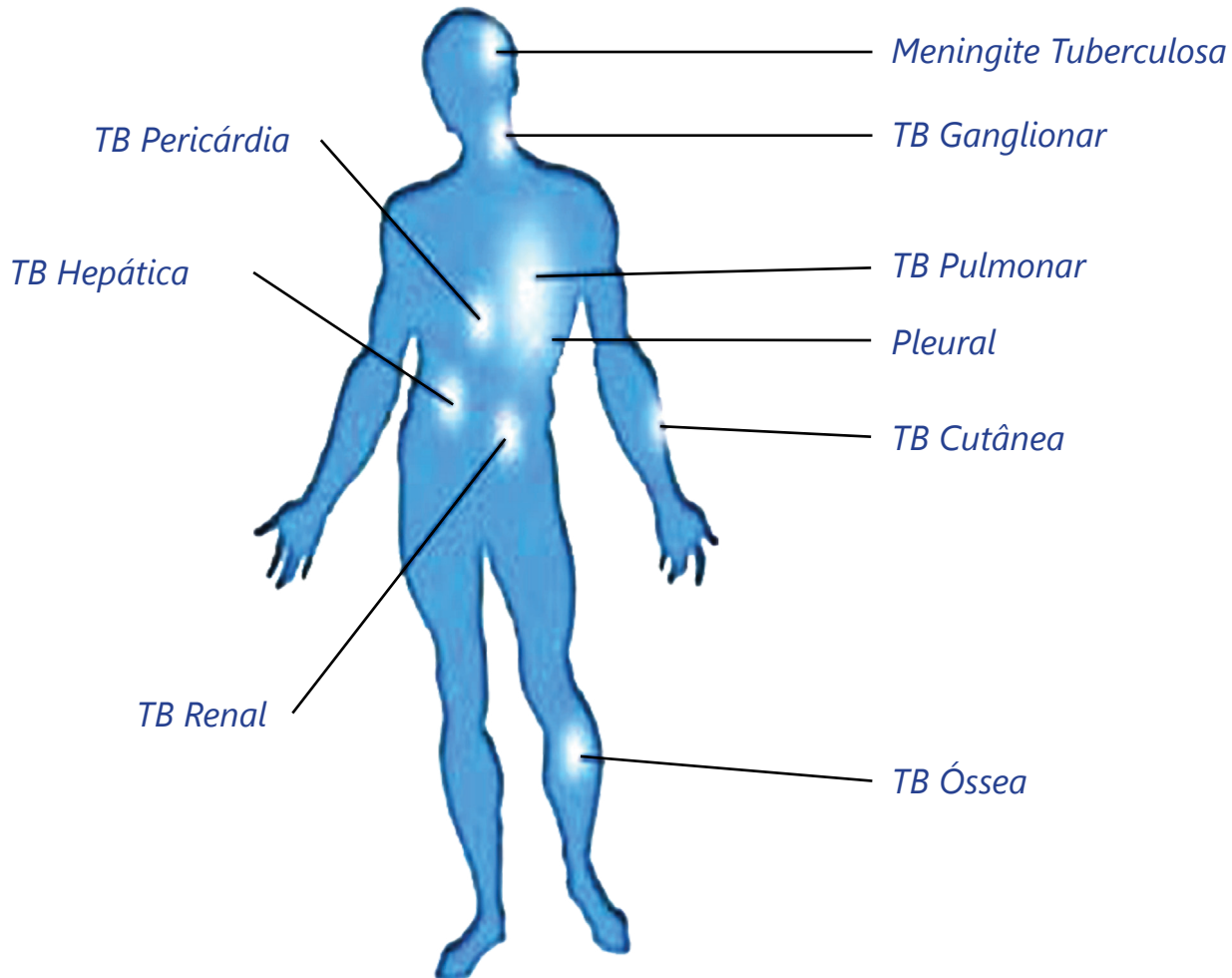
Em países com poucos recursos, como é o caso de Mocambique, a baciloscopia pelo método de Ziehl-Neelsen é a técnica de eleição recomendada pelo Programa Nacional de Controlo da Tuberculose (PNCT) para o diagnóstico da TB, especialmente da forma pulmonar (MISAU, 2007). Contudo, ela deve ser realizada de maneira correcta, desde a colheita da expectoração até a leitura e interpretação dos resultados. De acordo com Souza et al. (2007), a baciloscopia, quando executada correctamente detecta 70 a 80% dos casos de TB pulmonar numa comunidade.

É neste contexto que o presente manual foi concebido, com o objectivo de padronizar as técnicas para o diagnóstico da TB através da baciloscopia pelo método de Ziehl-Neelsen, e servir de guia aos Técnicos de Laboratório.



2. CLASSIFICAÇÃO DA TUBERCULOSE

A TB é uma doença que acomete principalmente os pulmões, mas também pode ocorrer em qualquer outro órgão ou ainda afectar vários órgãos do corpo humano simultaneamente, formando lesões nodulares ou tubérculos, daí o nome Tuberculose. A figura 1 mostra as formas mais comuns de TB, segundo os órgãos afectados no corpo humano.



Fonte:

Campelo et al., 2001

Figura 1.

Formas mais comuns de TB, segundo os órgãos afectados no corpo humano.

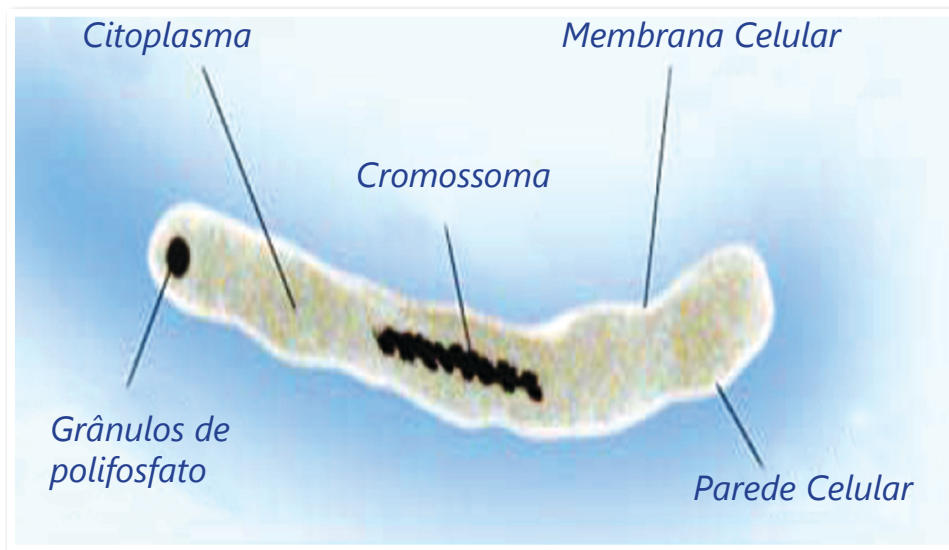
Portanto, a TB pode ser classificada como sendo:

- Pulmonar, quando o órgão afectado é o pulmão.
- Extra-pulmonar, quando afecta outros órgãos.



3. O AGENTE ETIOLÓGICO DA TUBERCULOSE

O agente causador da TB foi descoberto pela primeira vez em 1882, pelo Alemão Robert Koch. Trata-se de uma bactéria em forma de bastonete, daí a designação bacilo (figura 2).



Fonte:

Campelo et al., 2001

Figura 2.

Caraterísticas morfológicas do agente causador da TB (Bacilo de Koch)

A tuberculose humana é causada por cinco espécies de bactérias pertencentes ao complexo *Mycobacterium tuberculosis* a saber (Ministério da Saúde, 2007):

- *M. tuberculosis*
- *M. bovis*
- *M. africanum*
- *M. microti*
- *M. canetti*

Para além dessas espécies, existem pelo menos 81 outras espécies de micobactérias classificadas como atípicas. Estas não causam TB, mas podem causar doença em determinadas circunstâncias como é o caso dos imunodeprimidos (Viveiros e Atouguia, 2007).

3.1. Funções dos organelos celulares

Cada organelo que constitui a bactéria *M. tuberculosis* possui funções e características específicas:

- **Citoplasma** - produção de enzimas necessárias para a biossíntese celular como é o caso da enzima nitrato-redutase.
- **Membrana celular** - síntese de pigmentos carotenóides e niacina. A nitrato-redutase, os pigmentos carotenóides e a niacina são utilizados nos testes bioquímicos para a identificação do Complexo *M. tuberculosis*.
- **Grânulos de polifosfato** - localizados no citoplasma, são usados nas actividades energéticas, como é o caso da reprodução.

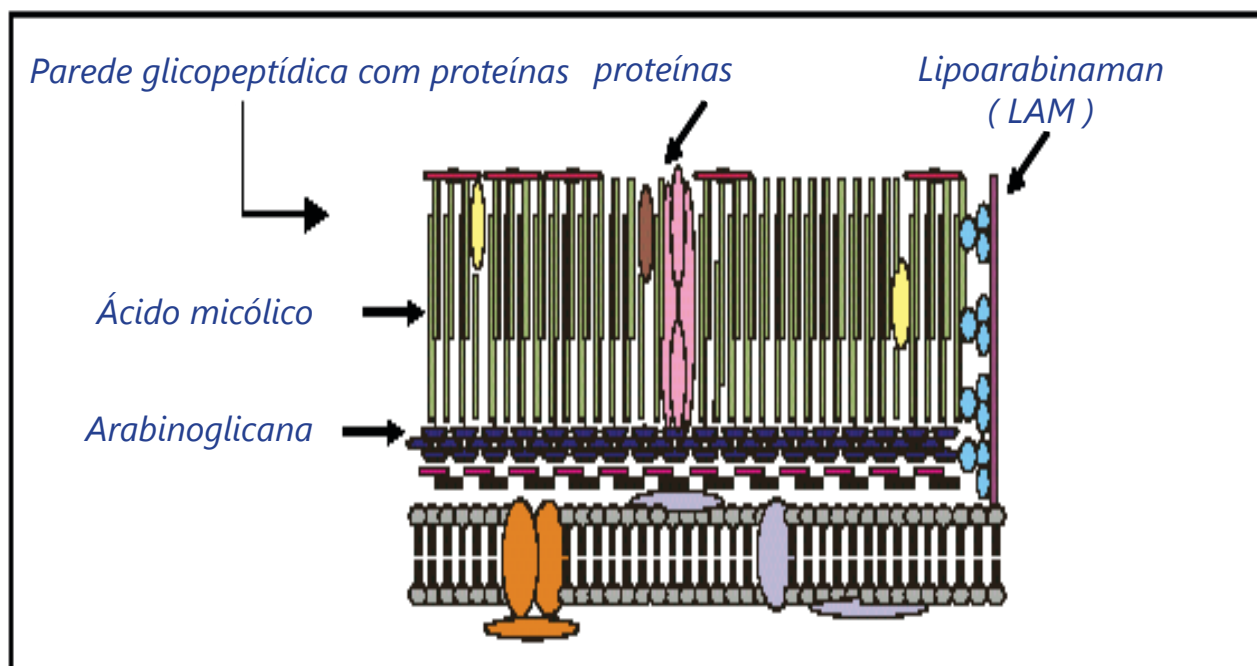


• **Parede celular** - é constituída principalmente por grande quantidade de lípidos, compostos pelos ácidos micólicos, que são responsáveis pelas propriedades tinturiais das micobactérias. São os ácidos micólicos que se ligam aos corantes fucsina ou auramina O e resistem à descoloração pelo álcool-ácido, daí a designação de BAAR (Bacilos Álcool-Ácido Resistentes). Também é na parede celular onde se encontra o composto "factor corda" (6,6 dimicolato de trealose) responsável pelo aspecto agregado dos bacilos na leitura microscópica ou ainda pela formação de películas em meios de cultura líquido. Portanto, a parede celular dá a forma e confere rigidez ao bacilo.

3.1.1. Parede celular das micobactérias

A parede celular das micobactérias (figura 3) apresenta as seguintes características:

- Não se coram com GRAM
- São diferentes das GRAM+ e GRAM-
- São grossas e com grande quantidade de lípidos
- Possuem ácidos micólicos (60% da parede)
- São impermeáveis.



Fonte:

Campelo et al., 2001

Figura 3.

Ultraestrutura da parede celular das micobactérias



4. MODOS DE TRANSMISSÃO DO BACILO DA TUBERCULOSE

O *M. tuberculosis* é transmitido pelo doente com doença pulmonar activa:

- O doente expele os bacilos da TB em pequenas gotículas de secreções respiratórias durante a fala, expiro ou tosse (figura 4).
- As secreções evaporam rapidamente deixando "núcleos de gotículas" com menos de 5µm de diâmetro (aerossóis).
- Os aerossóis que contêm 1 a 3 bacilos podem permanecer suspensos no ar até 6 horas.
- A inalação dos bacilos nos aerossóis atinge os alvéolos pulmonares onde estes podem ser destruídos ou permanecer em estado de latência ou ainda multiplicarem-se produzindo doença.



Figura 4.
Propagação de gotículas e emissão de aerossóis

4.1. Risco relativo por exposição a um caso infeccioso de tuberculose

O esquema abaixo apresenta o risco relativo por exposição ao bacilo segundo o nível de atendimento ao paciente:

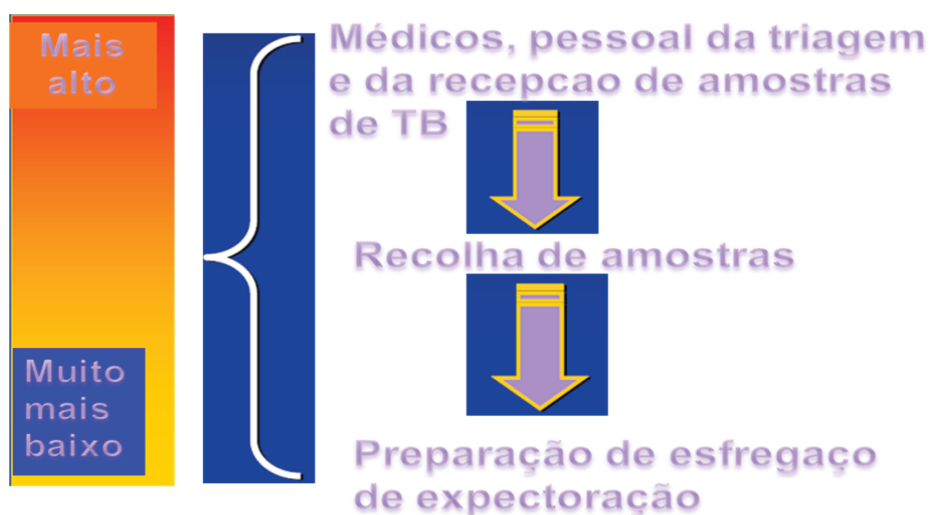


Figura 5.
Grau de risco segundo a exposição.

4.2. Grau de risco no laboratório

No laboratório, o grau de risco nas actividades cresce segundo a sua complexidade, pois a concentração de bacilos também aumenta. Veja figura 6.

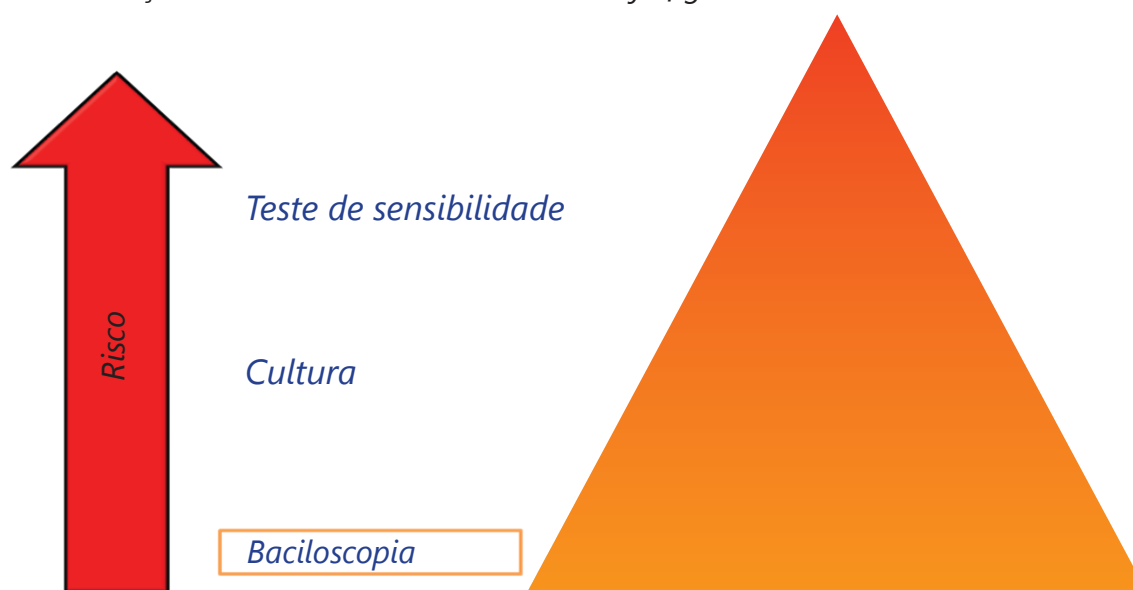


Figura 6.
Grau de risco segundo a complexidade das actividades.

Portanto, a transmissão da TB depende:

- Da concentração de bacilos no ar, ou seja, de partículas infectantes produzidas ou eliminadas pelo paciente bacilífero;
- Do tempo de exposição;
- Da proximidade ou convívio em ambientes fechados;
- De factores imunológicos.

Nota:

O ar do ambiente remove os aerossóis e os bacilos neles contidos são mortos pela luz solar directa que contém raios ultravioletas (UV). O desenvolvimento da TB depende muito da competência imunológica do indivíduo, pois apenas cerca de 10% a 20% das pessoas que entram em contacto com o bacilo desenvolvem a doença.

5. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA TUBERCULOSE

A TB manifesta-se pelos seguintes sintomas:

- Tosse com expectoração por mais de três semanas,
- Febre,
- Suores nocturnos,
- Falta de apetite,
- Cansaço,
- Falta de ar,
- Emagrecimento.



6. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DA TUBERCULOSE

Os principais métodos para o diagnóstico da TB são:

a) Exame clínico:

Possibilita ter o diagnóstico preliminar da doença baseando-se nos sintomas apresentados pelo paciente, porém, precisa de ser confirmado por outros exames.

b) Exame radiológico do torác:

Revela imagens sugestivas da doença, também precisa de ser confirmado por outros exames.

c) Prova ou reacção tuberculínica (PPD):

Derivado protéico antigênico do bacilo purificado, também chamado teste de Mantoux em homenagem ao cientista que aperfeiçou este teste criado pelo Koch. Trata-se de uma reacção intradérmica que permite saber se o indivíduo entrou em contacto com o bacilo ou não.

d) Diagnóstico laboratorial (baciloscopia e cultura):

Permite ter o diagnóstico seguro da tuberculose. A baciloscopia é a pesquisa de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) em esfregaços de amostras preparados e corados segundo uma metodologia padronizada, através do microscópio. A cultura é um exame que permite o isolamento e a multiplicação de BAAR, através da inoculação da amostra em meios de cultura específicos para micobactérias.

7. A BACILOSCOPIA

A baciloscopia é a pesquisa de BAAR no esfregaço da amostra através do microscópio. Trata-se de uma técnica simples, de fácil execução, porém de baixa sensibilidade (25% a 65%) se comparado com a cultura, pois o número mínimo de bacilos para que se tenha um resultado positivo de baciloscopia varia de 5.000 a 10.000 bacilos/ml da amostra.



7.1. Indicações para a realização da baciloscopia

- Na suspeita de TB pulmonar, realizar a baciloscopia para todas as amostras quer para o diagnóstico, quer para o controlo de tratamento. A cultura deve ser realizada para a confirmação diagnóstica em amostras de sintomáticos respiratórios com baciloscopia negativa e para casos de controlo de tratamento.
- Na suspeita de TB extra-pulmonar, realizar simultâneamente a baciloscopia e a cultura.

Nota:

Nas amostras de sangue recomenda-se a realização da cultura por estas serem paucibacilares.

7.2. Importância da baciloscopia

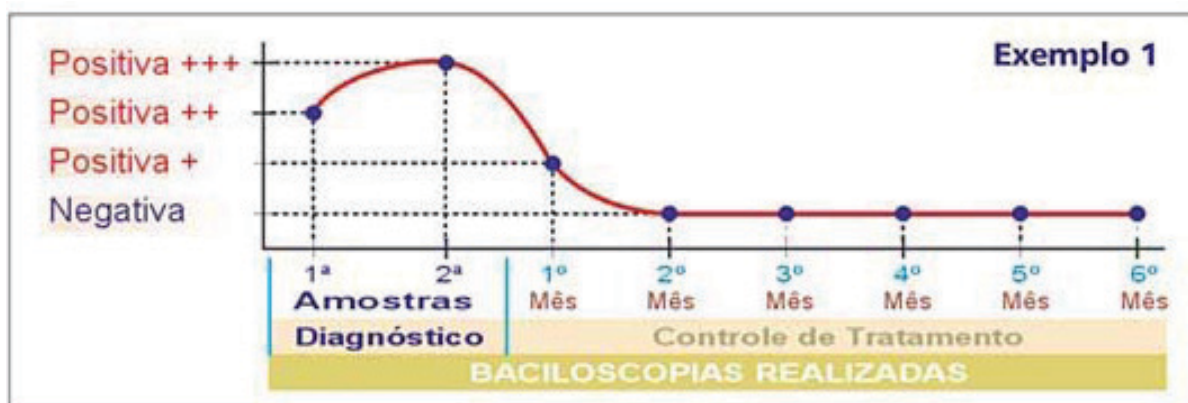
A realização da baciloscopia no caso da tuberculose pulmonar é importante pois:

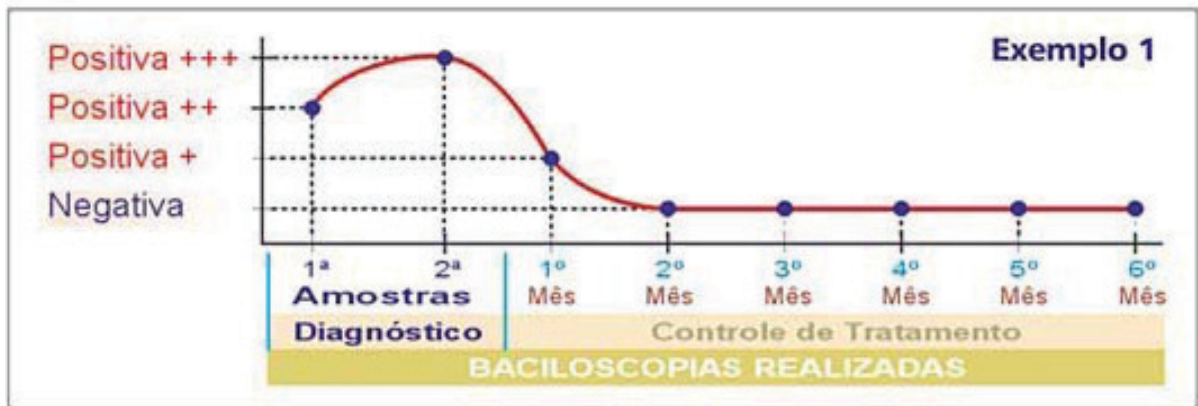
- Detecta a maioria dos casos bacilíferos (70%),
- Limita a cadeia de transmissão,
- Permite avaliar o sucesso ou falência do tratamento,
- É um método simples, rápido e de baixo custo.

7.3. Variação da curva de baciloscopia ao longo do tratamento

Ao longo do tratamento dos pacientes com TB é recomendável a realização da baciloscopia ao final do 2º e 5º mês, e após o tratamento. No entanto, o ideal é realizar a baciloscopia mensalmente para que se possa construir a curva de baciloscopia e monitorar a eficácia do tratamento (figura 7A e 7B).

A:





B:

Fonte:

Campelo et al., 2001

Figura 7.

A - Curva baciloscópica de um caso de sucesso de tratamento (Cura de doença);

B - Curva baciloscópica de um caso de falência de tratamento

7.4. Tipo de amostra no diagnóstico laboratorial da tuberculose

Tomando em consideração a suspeita de TB ou órgão afectado, pode-se pedir a análise laboratorial das amostras abaixo mencionadas:

a) Tuberculose Pulmonar

- Expectoração,
- Lavado brônquico,
- Lavado bronco-alveolar,
- Lavado gástrico,
- Fragmento de tecido pulmonar (biópsia pulmonar).

b) Tuberculose extra-pulmonar

- Urina,
- Líquido corporal: pleural, peritoneal, ascítico, sinovial, pericárdico, líquido cefalo-raquidiano (LCR), etc.
- Secreções ganglionares,
- Fragmentos de tecidos (biópsias cutâneas, de vísceras, pleura, nódulos, ossos, etc),
- Secreções purulentas (pús),
- Sangue, no caso de TB sistémica (bacterémia) e aspirado de medula.



7.5. Factores que determinam bons resultados da baciloscopia

Entre os factores que determinam bons resultados da baciloscopia citam-se:

- *Indicação correcta da pesquisa de micobactérias (hipótese diagnóstica correcta);*
- *Requisição da análise laboratorial correctamente preenchida;*
- *Seleccção da amostra mais representativa;*
- *Boa preparação psicológica do paciente para a colheita de amostras;*
- *Observação dos cuidados na colheita, conservação, transporte, e recepção das amostras;*
- *Cuidados na análise técnica;*
- *Interpretação correcta dos resultados e*
- *Emissão do resultado a tempo (<24H).*

7.6. Factores que afectam negativamente os resultados da baciloscopia

Entre os factores que podem afectar negativamente os resultados da baciloscopia citam-se:

- *Requisição da análise laboratorial inadequada, ou mal preenchida;*
- *Colheita, conservação e transporte de amostras inadequados;*
- *Falha técnica na análise;*
- *Demora na emissão do resultado (>24H) e*
- *Má interpretação dos resultados.*

7.7. Colheita de amostras de expectoração

A colheita de expectoração deve ser feita em escarradores estéreis fornecidos pela Unidade Sanitária ou pelo laboratório. Os escarradores devem ter as seguintes características:

- *Ter altura mínima de 40mm e diâmetro de 50mm;*
- *Ter tampa com rosca e larga;*
- *De plástico transparente;*
- *Com capacidade de 35 a 50ml.*





Figura 8.
Escarradores para a colheita de expectoração

7.7.1. Instruções para a colheita de expectoração

As instruções para a colheita de expectoração devem estar disponíveis por escrito em todos os laboratórios e serviços de consulta de tuberculose. O profissional de saúde deve conhecer perfeitamente essas instruções para explicar ao paciente, e deve dirigir-se a ele cumprimentando-o.

É importante manter contacto visual, concentrar-se nele, manter fisionomia receptiva, usar linguagem simples e de fácil entendimento. Informar que a melhor amostra é a proveniente da árvore brônquica (pulmões); a saliva ou secreções nasais são inadequadas para o exame, e são necessárias duas amostras de expectoração para um diagnóstico ideal.

Colheita da 1ª amostra:

- Lavar a boca ou buchechar com água corrente para retirar partículas alimentares;
- Inspirar o ar profundamente pelo nariz, reter o ar por alguns segundos no pulmão, e expirar lentamente pela boca (realizar este procedimento duas vezes);
- Na terceira vez, inspirar o ar profundamente pelo nariz, reter o ar por alguns segundos no pulmão, e expirar forçando a tosse;
- Colher a expectoração directamente para o escarrador;
- Se necessário repetir estes procedimentos até atingir um volume de 5 a 10ml de expectoração;
- Fechar bem o escarrador e entregar ao profissional de saúde.



Nota:

A 1ª amostra deve ser colhida de imediato, isto é, no local da consulta; num sítio arejado e distante das pessoas. Se não for possível realizar a colheita no local da consulta, o paciente deve colher a noite, antes do jantar. O profissional de saúde deve entregar os escarradores já identificados e simular a técnica de colheita durante as orientações de colheita.

Colheita da 2ª amostra:

- Instruir o paciente a tomar muitos líquidos durante o dia (água, sumos, etc.) e a se deitar sem almofada, caso tenha dificuldades de expectorar;
- Realizar a 2ª colheita no dia seguinte, logo ao acordar, seguindo as orientações acima descritas.
- Levar o escarrador até ao profissional de saúde o mais rápido possível, protegendo-o do sol.

7.7.2. Local ideal para a colheita:

O local ideal para a colheita de expectoração imediata (no momento da consulta) é o Centro de Saúde ou o laboratório que faz baciloscopias porque a amostra é recente, a colheita é supervisionada, permite repetição imediata caso necessário. Esta deve ser realizada numa sala com condições específicas de biossegurança para colheita, caso não haja, recomenda-se que a colheita seja realizada ao ar livre num lugar arejado ou com ventilação.

7.7.3. Vantagens da colheita de amostra imediata

- É conveniente para o doente.
- Está disponível uma amostra imediata no caso do doente não voltar com a 2ª amostra, para além de ser uma amostra recente e supervisionada.

7.7.4. Desvantagens da colheita de amostra imediata

- Pode ser de fraca qualidade (paucibacilar).
- Elevado risco de não detectar um caso se a primeira amostra não for examinada correctamente.



7.7.5. Biossegurança na colheita de amostras

- O doente constitui um risco maior para o pessoal do que a amostra, daí que o profissional deve instruir o doente a cobrir a boca quando tosse;
- Nunca colher expectoração no laboratório se não possuir sala específica para colheita;
- A colheita ao ar livre é vantajosa porque o ar dilui rapidamente os aerossóis e a luz ultra-violeta (UV) dos raios solares inactiva rapidamente os bacilos;
- O profissional deve usar Equipamento de Protecção Individual (EPI): máscara, respiradores N95; luvas, bata, e não deve ficar próximo do doente durante a colheita da amostra.

7.8. Conservação das amostras

- Se o envio das amostras de expectoração ao laboratório ocorrer dentro de 24 horas, ou seja no mesmo dia de colheita, as amostras poderão estar a temperatura ambiente protegidas da luz solar.
- Se a demora for no máximo de 5 dias, então as amostras de expectoração deverão ser mantidas refrigeradas entre 2 a 8° C na geleira para armazenamento do material contaminado, ou em caixas térmicas com acumuladores de gelo.
- Se não for possível enviar em 24 horas ao laboratório, e não houver geleira para armazenamento, o ideal é realizar o esfregaço e fixar na chama para posterior envio ao laboratório.
- A conservação de amostras extrapulmonares deve ser feita entre 2 a 8° C e processada num período inferior a 24 horas, ou seja no mesmo dia da colheita.

Nota:

Tratar todas amostras como potencialmente patogénicas (causadoras de doença).

7.9. Transporte de amostras

7.9.1. Paciente

- Levar o escarrador voltado para cima de imediato ao laboratório,
- Proteger as amostras do sol,
- Não agitar os escarradores contendo a amostra,
- Levar também o pedido médico (requisição) e não juntar com o escarrador,
- Evitar o uso de caminhos muito frequentados (mercados, lojas, etc.).



7.9.2. Profissional de saúde

- Conferir cada uma das requisições com a amostra correspondente;
- Colocar os escarradores voltados para cima dentro da caixa térmica (figura 9);
- Escolher o caminho mais próximo e com menos obstáculos;
- Não manusear as amostras durante o transporte;
- Não colocar a requisição médica junto a amostra;
- É fundamental identificar o nome completo do paciente e a data; de colheita na requisição, tampa e corpo do escarrador.

Nota:

As amostras devem ser acompanhadas de um livro/caderno de protocolo de entrega.



Fonte:

Ministério de Saúde, 2008

Figura 9.

Caixa térmica usada no transporte de amostras

7.10. Fluxo de envio de amostras aos Laboratórios de Referência da Tuberculose

O envio de amostras aos Laboratórios de Referência da Tuberculose é feito quando são necessários exames adicionais à baciloscopia como é o caso da cultura, identificação de micobactérias e testes de sensibilidade à antibióticos. O esquema abaixo ilustra o fluxo de envio das amostras desde os Centros de Saúde dos distritos até aos Laboratórios de Referência.



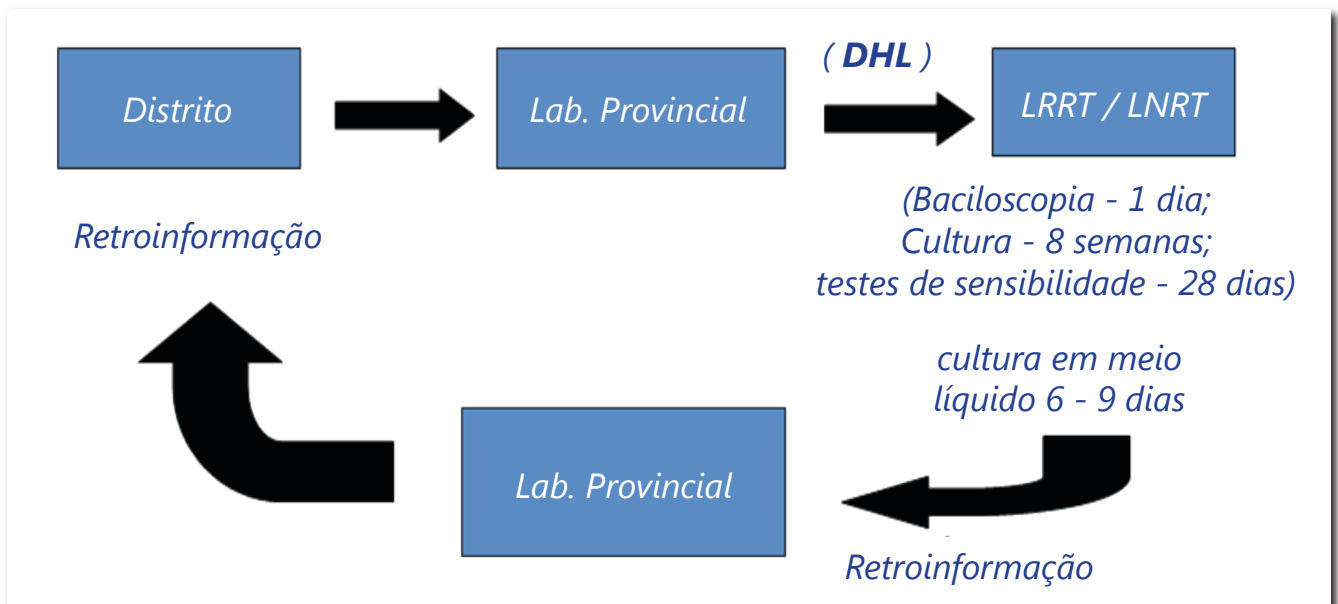


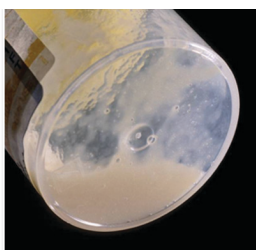
Figura 10.

Fluxo de envio de amostras e resultados.

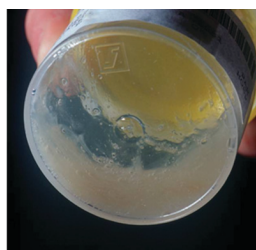
7.11. Recepção das amostras

No acto de recepção das amostras o profissional de saúde deve seguir as seguintes instruções:

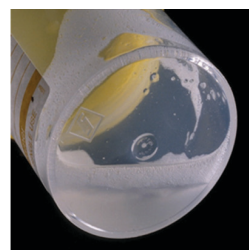
- Abrir as caixas e verificar se as amostras estão íntegras. Caso haja vasamento ou derrame da expectoração, anotar no livro de rejeição e na requisição correspondente, e solicitar novas amostras ao remetente,
- Proceder imediatamente o descarte das amostras derramadas, colocando-as num tabuleiro e envolvendo-as em papel toalha, gaze ou ainda em algodão embebido em fenol a 5%,
- Descartar os sacos plásticos que envolviam as amostras e descontaminar as caixas térmicas com álcool a 70% ou fenol a 5%, seguindo as normas de biossegurança,
- Às amostras em condições de serem processadas, atribuir o número de registo na tampa e corpo dos escarradores, bem como nas respectivas requisições,
- Avaliar a qualidade das amostras (figura 11) observando o aspecto macroscópico das mesmas e anotar no livro de registo laboratorial.



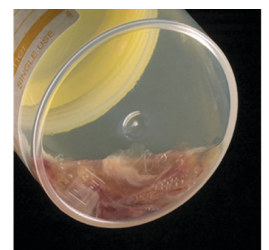
Purulenta



Mucóide



Saliva ou expectoração induzida (?)



Hemoptóica

Figura 11.

Avaliação macroscópica da expectoração.

Uma vez feito o registo e atribuição do número de ordem laboratorial, as amostras podem ser processadas, isto é, submetidas a baciloscopia ou cultura.

8. PROCEDIMENTOS TÉCNICOS DA BACILOSCOPIA

8.1. Organização da bancada e do material

Organizar o material necessário:

- a) Lamparina,
- b) Ansa metálica de 3mm,
- c) Lâminas novas e limpas desengorduradas em álcool absoluto,
- d) Frasco com areia e álcool a 70%,
- e) Tabuleiro com papel-toalha e fenol a 5%.

8.2. Marcação de lâminas

8.2.1. Lâminas de extremidades foscas

- a) Identificar correctamente cada lâmina com o número de amostra,
- b) Usar lápis de carvão ou de diamante para escrever os números na extremidade fosca da lâmina,
- c) Usar uma única lâmina para cada amostra. Exemplo: 123/1 para 1ª amostra e 123/2 para a 2ª amostra.

8.2.2. Lâminas de extremidades lisas (não foscas)

- a) Identificar correctamente cada lâmina com o número de amostra,
- b) Usar lápis de diamante para escrever os números numa das extremidades da lâmina,
- c) Usar uma única lâmina para cada amostra. Exemplo: 123/1 para 1ª amostra e 123/2 para a 2ª amostra.

8.3. Preparação de esfregaço

- a) Mergulhar a ansa na areia com álcool a 70%,
- b) Esterilizar a ansa na lamparina (até a ansa tornar-se rubra/vermelha),
- c) Arrefecer a ansa,



- d) Colher uma parte da amostra com a ansa escolhendo a porção mais purulenta (figura 12),
- e) Colocar a amostra no centro da lâmina,
- f) Fazer o esfregaço o mais fino possível cobrindo uma área de 2x1cm,
- g) Passar a ansa no frasco contendo areia com álcool para remover resíduos de expectoração e esterilizar de novo na lamparina,
- h) Realizar os mesmos procedimentos para a 2ª amostra.



Figura 12.

Parte purulenta da amostra por colher com ansa durante a execução do esfregaço.

8.4. Secagem e fixação de esfregaços

- a) Deixar secar os esfregaços ao ar livre,
- b) Não usar a chama para secar os esfregaços e nem colocar ao sol,
- c) Após a secagem, fixar o esfregaço passando 3 vezes pela chama da lamparina ou bico de Bunsen.

Atenção:

a parte que contém o esfregaço deve estar voltada para cima, isto é, a chama deve atingir a parte de baixo do esfregaço (figura 13).



Figura 13.

Fixação do esfregaço.



8.5. Coloração do esfregaço - Método de Ziehl-Neelsen

O princípio da coloração do esfregaço pelo método de Ziehl-Neelsen basea-se na resistência à descoloração da fucsina na parede celular do bacilo, após lavagem com soluções álcool-ácido.

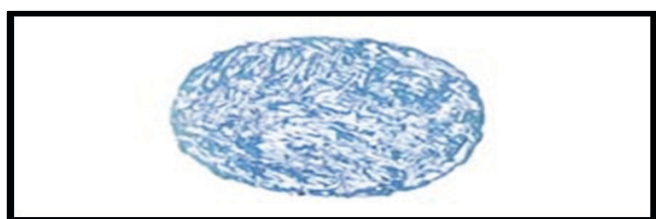
Assim, proceder da seguinte maneira:

- Colocar as lâminas sobre um suporte, com a parte do esfregaço voltada para cima,
- Cobrir as lâminas na totalidade com fucsina a 0.3%,
- Aquecer as lâminas lentamente até a emissão de vapor,
- Deixar arrefecer 5-7 minutos,
- Lavar as lâminas com água corrente,
- Cobrir as lâminas com a solução álcool-ácido ou ácido sulfúrico a 20%,
- Deixar actuar durante 2 minutos,
- Lavar com água corrente, repetir a operação se necessário,
- Cobrir as lâminas com azul de metileno a 0.3%,
- Deixar actuar durante 2-3 minutos,
- Lavar com água corrente e secar ao ar livre.

Nota:

Aconselha-se a filtrar a fucsina e o azul de metileno com papel de filtro e não deixar ferver a fucsina, nem secar as lâminas durante o processo de aquecimento.

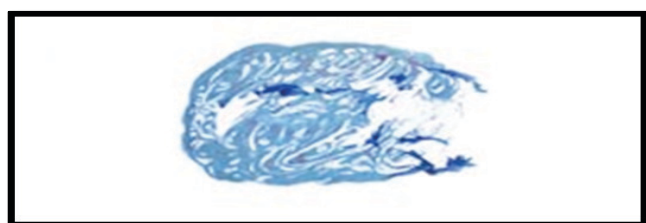
8.6. Uniformidade do esfregaço



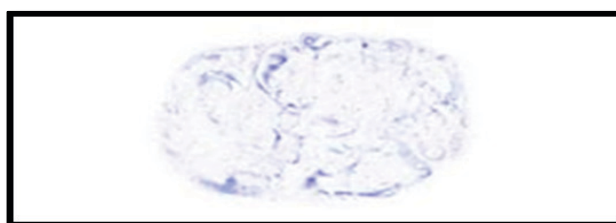
Bom



Bom



Irregular



Demasiado fino

Figura 14.

Aspectos adequados e inadequados de esfregaços (tamanho e espessura).



8.7. Observação microscópica de esfregaços

- Limpar bem as objectivas do microscópio;
- Colocar a lâmina na platina e focar com objectiva de 10x com ajuda do parafuso macrométrico e micrométrico;
- Colocar 1 gota de óleo de imersão sobre a lâmina;
- Usar a objectiva de 100x e focar até o aparecimento de uma imagem bem nítida;

Na coloração pelo método de Ziehl- Neelsen, os bacilos aparecem em forma de bastão avermelhados, por vezes isolados ou agrupados ou ainda fragmentados (pacientes em tratamento), com um fundo azul (figura 15).



Figura 15.
Formas de apresentação de BAAR ao microscópio.

8.7.1. Técnica de contagem e leitura de lâminas

- Dividir mentalmente o campo em quatro quadrantes: 12, 3, 6, 9 no sentido horário,
- Iniciar a contagem pelo quadrante superior direito entre os números 12 e 3, focando e desfocando com parafuso micrométrico,
- Contar mentalmente os bacilos na superfície e na profundidade,
- Continuar com a contagem nos outros quadrantes, no sentido horário (figura 16).

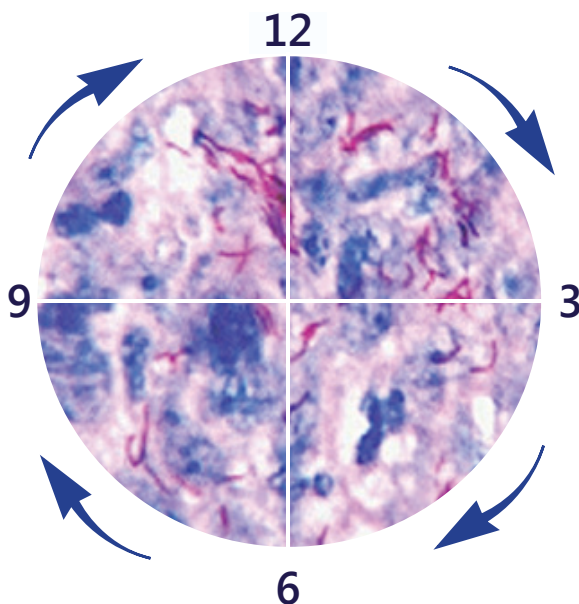


Figura 16.
Quadrantes e forma de leitura de um campo microscópico.



e) Anotar o número total de bacilos contabilizados no papel quadriculado de leitura microscópica, onde cada grelha corresponde a um campo (figura 17).

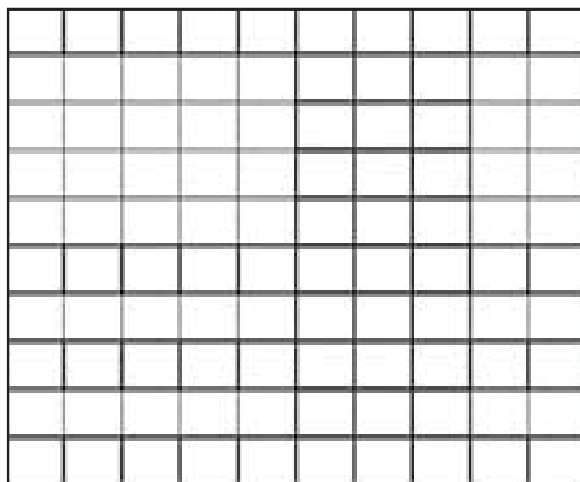


Figura 17.
Papel quadriculado usado na leitura microscópica

8.7.2. Mudança de campo microscópico

Para mudar de campo durante a leitura microscópica, procura-se um ponto de referência, que pode ser um artefacto, uma fibra, um bacilo, etc. Partindo do ponto 3 move-se o campo até o ponto 9 do campo seguinte, como mostra a figura 18.

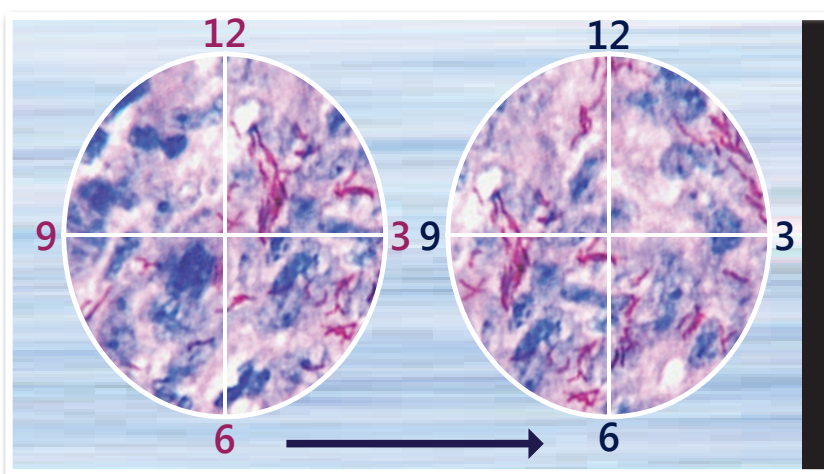


Figura 18.
Mudança de um campo para outro durante a leitura microscópica.

8.8. Emissão de resultados

Depois de preenchidas as grelhas correspondentes aos números de campos observados durante a leitura microscópica, determina-se a média pela divisão do total de bacilos observados pelo número total de campos lidos:

- Negativo: nenhum BAAR em 100 campos,



b) Reagentes químicos

- Fucsina básica
- Fenol
- Álcool
- Azul-de-metileno
- Ácido sulfúrico
- Água destilada

c) Equipamento

- Balança
- Agitadores magnéticos

Diversos

- Luvas
- Bata de laboratório
- Óculos de protecção
- Lâminas de controlo de qualidade
- Caderno ou livro de registo

9.2. Especificações e correção da pureza do corante (em pó)

As especificações de quaisquer reagentes vêm indicados no rótulo do frasco ou recipiente que contém o mesmo. Estas especificações são indicadas pelo fabricante e a sua verificação antes da compra e uso é dever de cada cliente. Uma vez verificadas as especificações do corante, e tendo-se notado que o teor encontra-se abaixo do recomendado, é necessário proceder as correcções.

Por exemplo:

Sabe-se que o teor recomendável do pó da fucsina básica é de 85%, para preparar uma solução de fucsina básica a 0.3%, a partir de 3g. Se o teor do pó da fucsina básica for de 75%, este equivale ao decimal de 75% = 0.75. Então $3g / 0.75 = 3.99g = 4.0g$. Portanto, será necessário pesar 4.0g de pó de fucsina básica para preparar uma solução de fucsina básica a 0.3%.



9.3. Qualidade da água

A água para preparação de soluções deve estar livre de micobactérias, daí que deve ser destilada ou purificada e esterilizada.

Nota:

Nunca usar água da chuva, da torneira ou água fervida para preparar soluções pois contém impurezas.

9.4. Preparação de fucsina a 0.3%

Reagentes

- a) *Pó de fucsina básica: 3 gramas,*
- b) *Fenol: 50 gramas,*
- c) *100 ml de etanol ou metanol a 95%,*
- d) *Água destilada e esterilizada.*

Preparação:

- a) *Dissolver o fenol em álcool,*
- b) *Dissolver a fucsina completamente na mistura,*
- c) *Adicionar a água até perfazer 1000ml de Solução,*
- d) *Misturar bem.*

9.5. Preparação de azul de metileno a 0.3%

Reagentes

- a) *Pó azul de metileno: 3 gramas,*
- b) *Água destilada: 1 litro.*

Preparação:

- a) *Colocar 500 ml de água num frasco de 2 litros,*
- b) *Adicionar o azul de metileno e misturar bem até ficar completamente dissolvido,*
- c) *Adicionar a água restante, misturar bem.*



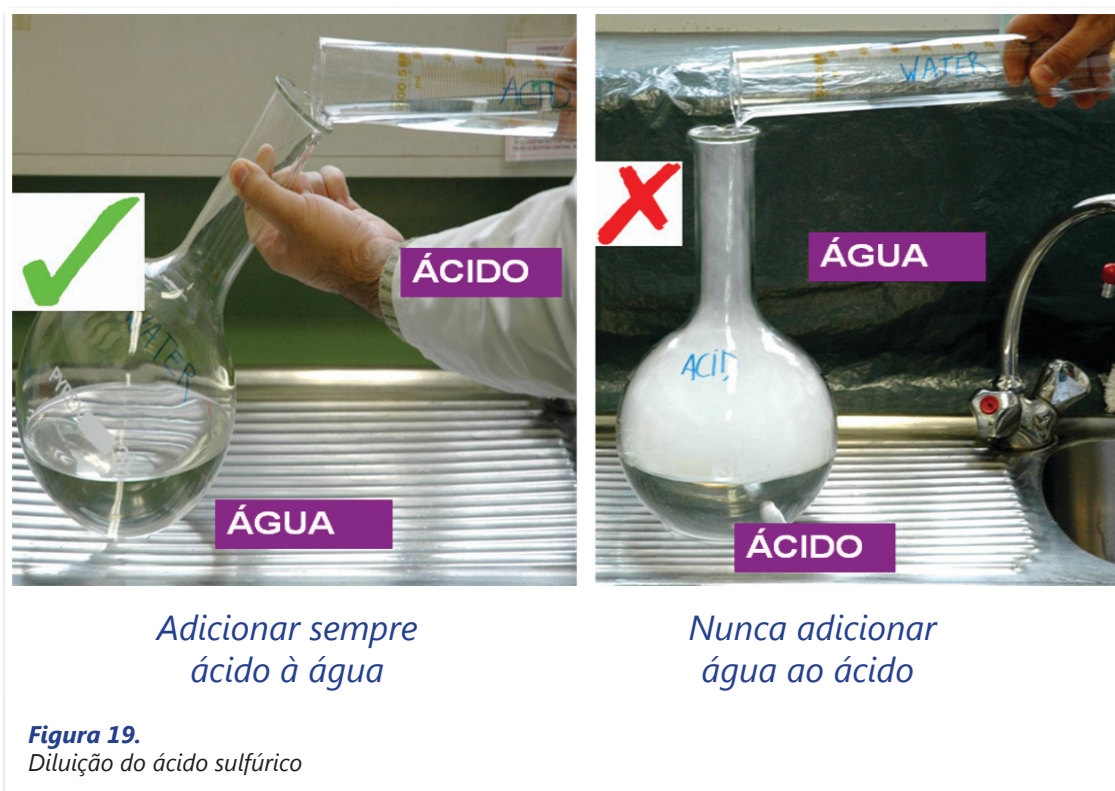
9.6. Preparação da solução de descoloração

Reagentes

- a) Ácido sulfúrico a 95%: 250 ml.
- b) Água: 750 ml.

Preparação:

- a) Medir 750 ml de água para um frasco de 2 litros,
- b) Medir 250 ml de ácido sulfúrico concentrado numa proveta,
- c) Verter lentamente para o frasco com a água, dirigindo o fluxo do ácido suavemente através da parede interior do frasco,
- d) Parar e girar o frasco regularmente dado que é gerado muito calor até ser adicionado todo o ácido,
- e) Misturar bem e deixar arrefecer antes de utilizar.



9.7. Solução de descoloração alternativa

Reagentes

- a) Ácido clorídrico (fumegante) - 30 ml,
- b) Álcool desnaturado (ex: ethanol 96%) - 970ml.

Preparação:

- a) Colocar 970ml de álcool desnaturado a 95% a um frasco de 2 litros,
- b) Adicionar 30ml de ácido lentamente,
- c) Misturar bem e deixar arrefecer antes de utilizar.

9.8. Controlo de qualidade dos reagentes

- a) Corar duas lâminas: uma positiva e outra negativa de resultados previamente conhecidos,
- b) Verificar se o fundo é azul,
- c) Registrar o resultado da observação microscópica,
- d) Registrar os resultados no livro de controlo de qualidade de reagentes.

9.9. Rotulagem e armazenamento de reagentes

Cada frasco ou recipiente com reagente deve ser rotulado pelo menos com:

- Nome do reagente,
- Data de preparação e prazo de validade (3 Meses).

Armazenar todos os reagentes em local fresco e fora do alcance directo da luz solar.



9.10. Substâncias químicas usadas para o diagnóstico laboratorial da tuberculose como reagente ou desinfetante (Tabela 1)

Substâncias químicas	Indicações	Contra-indicações	Armazenamento	Validade	Método de descarte*
Álcool PA	A 70% é usado para desinfecção das mãos, bancadas e preparação de reagentes	É altamente inflamável e tóxico	A temperatura ambiente, longe do lume ou faíscas	Segundo o fabricante, ou 12 meses após a preparação	Na rede de esgoto comum em abundante água
Ácido Sulfúrico PA	A 20% ou 25% é usado na descoloração no Método de Ziehl - Neelsen	É corrosivo, irritante e altamente tóxico	Ao abrigo da luz solar em frascos escuros ou de vidro esfumado e a temperatura ambiente, em local sem humidade e longe do lume	Segundo o fabricante ou 3 meses após a preparação	Na rede de esgoto comum em abundante água, depois de diluídas
Ácido Clorídrico PA	A 0,5% ou 3% é usado como descorante no método de fluorescência e no método de Ziehl - Neelsen	É corrosivo, irritante e altamente tóxico	Ao abrigo da luz solar em frascos escuros ou de vidro esfumado e a temperatura ambiente, em local sem humidade e longe do lume	Segundo o fabricante ou 3 meses após a preparação	Na rede de esgoto comum em abundante água, depois de diluída
Solução Álcool-Ácido	A 3% usada como descorante no método de Ziehl - Neelsen	É corrosivo, irritante e tóxico	A temperatura ambiente, em local sem humidade e longe do lume	3 meses após a preparação	Na rede de esgoto comum em abundante água
Substâncias químicas	Indicações	Contra-indicações	Armazenamento	Validade	Método de descarte*
Fucsina básica	A 0,3% ou 0,5% é usado na coloração de Ziehl - Neelsen	É tóxico	Ao abrigo da luz solar em frascos escuros ou de vidro esfumado e a temperatura ambiente, em local sem humidade e longe do lume	12 meses após a preparação	Na rede de esgoto comum em abundante água
Azul de metileno a	A 0,1% ou 0,3% é usado na coloração de Ziehl - Neelsen	É tóxico	Ao abrigo da luz solar em frascos escuros ou de vidro esfumado e a temperatura ambiente	12 meses após a preparação	Na rede de esgoto em abundante água
Óleo de Imersão	Usado como refratante de raios luminosos na observação microscópica	É tóxico	A Temperatura ambiente	Segundo o fabricante	Na rede de esgoto comum em abundante água
Solução de Auramina O	A 0,01% é usado no Método de fluorescência	É uma substância cancerígena	Ao abrigo da luz solar em frascos escuros ou de vidro esfumado e a temperatura ambiente	3 meses após a preparação	Na rede de esgoto comum em abundante água
Solução Álcool-Ácido - Auramina	A 0,5% é usado como descorante no método de fluorescência	É tóxico	A Temperatura ambiente	3 meses após a preparação	Na rede de esgoto comum em abundante água
Permanganato de Potássio	A 0,5% é usado como descorante no método de fluorescência	É tóxico	Ao abrigo da luz solar em frascos escuros ou de vidro esfumado e a temperatura ambiente	3 meses após a preparação	Na rede de esgoto comum em abundante água
Solução de fenol	A 5% é usado como desinfetante (tabuleiros inox ou amostras biológicas para descarte)	É altamente corrosivo e cancerígeno (tóxico)	A Temperatura ambiente	Segundo o fabricante ou 12 meses após a preparação	Na rede de esgoto comum em abundante água
Solução de Hipoclorito de Sódio	A 2% ou a 5% é usado como desinfetante (soalho ou amostras biológicas para descarte)	É altamente corrosivo e irritante. Não usar em superfícies metálicas	A Temperatura ambiente	Segundo o fabricante ou 3 meses após a preparação	Na rede de esgoto comum em abundante água

Atenção:

o descarte de substâncias e resíduos químicos deve ser de acordo com as regras de proteção ambiental.



10. MICROSCÓPIO ÓPTICO COMPOSTO

O microscópio é um aparelho usado para ampliar e aumentar o poder de resolução de estruturas minúsculas impossíveis de visualizar a olho nú através de uma série de lentes.

“**micros** = pequeno e **skopein** = ver, examinar”

10.1. Composição do microscópio óptico composto

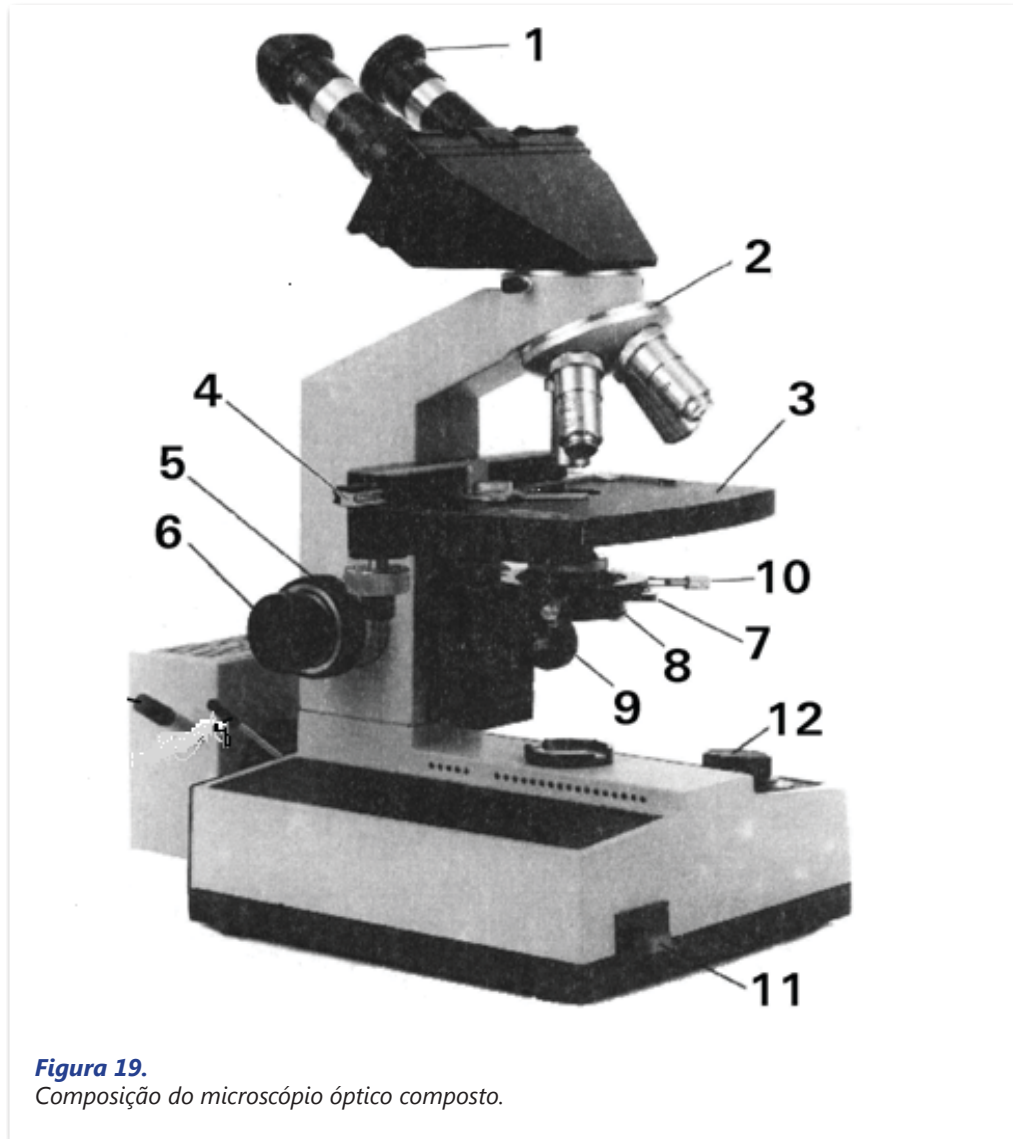


Figura 19.
Composição do microscópio óptico composto.

Legenda:

Parte mecânica

2) Revólver; 3) Mesa ou Platina; 4) Comando; 5) Parafuso macrométrico; 6) Parafuso micrométrico; 10) Dois parafusos centralizados do condensador;

Parte óptica

1) Oculares; 7) Diafragma; 8) Condensador; 9) Botão do condensador;
11) Fonte luminosa; 12) Controle de iluminação



10.2. Cuidados e manutenção do microscópio

- a) Colocar sempre o microscópio numa mesa ou bancada plana e estável, nunca nos bordos,
- b) Evitar colocar o microscópio perto de reagentes químicos, água ou descargas de gás corrosivo,
- c) Quando não estiver em uso, manter o microscópio na sua caixa ou protegê-lo da poeira usando uma capa plástica,
- d) Evitar a exposição do microscópio à humidade,
- e) Transportar com as duas mãos, uma segurando firmemente o braço do microscópio e a outra suportando a base,
- f) Limpar as lentes com tecido de algodão limpo,
- g) Limpar as objectivas com tecido de algodão limpo, embebido em álcool,
- h) Limpar regularmente o microscópio com um pano de algodão seco,
- i) Após observação com o óleo de imersão, limpar de imediato.



11. EXERCÍCIOS DE APLICAÇÃO

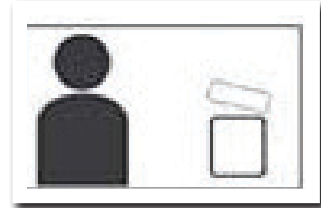
Parte - I

1) Dadas as figuras abaixo diga que fenómeno se trata? _____

2) Identifique as figuras:



(1)

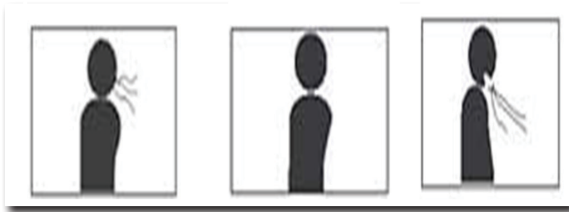


(2)

1 _____

2 _____

Cont. (3)



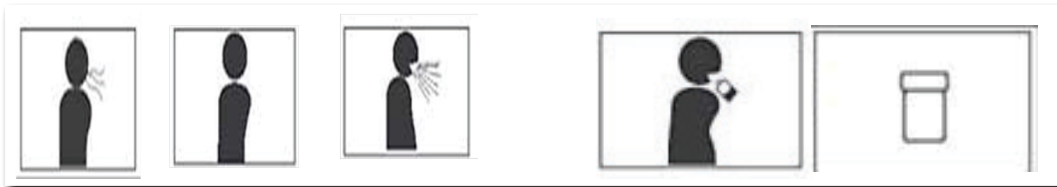
Cont. (4)



3 _____

4 _____

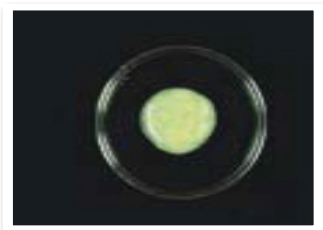
Cont. (5)



5 _____

Parte - II

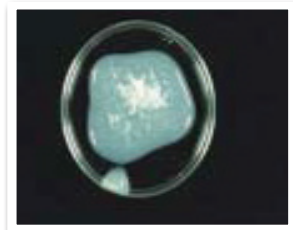
1- Classifique as seguintes amostras de expectoração



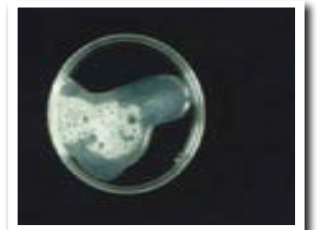
A



B



C



D



A _____

B _____

C _____

D _____

Parte - III

1- Para descobrir casos de TB na comunidade, devemos pesquisar:

- a) Sintomáticos respiratórios,
- b) Comunicantes de casos de TB,
- c) Suspeitos radiológicos,
- d) Pessoas com condição social e doenças que predisponham a TB,
- e) Todas alternativas estão corretas.

2. Em relação à colheita de expectoração para pesquisa do Bacilo de Koch:

- a) Devem ser colhidas duas amostras, uma no momento da suspeita e a segunda no dia seguinte ao despertar,
- b) Pode ser armazenada na geleira por até 5 dias,
- c) É um método simples e barato,
- d) As amostras devem ser encaminhadas de preferência no mesmo dia da colheita para o laboratório,
- e) Todas as alternativas são corretas.

3. O local adequado para colheita de expectoração deve ser:

- a) Na casa de banho dos doentes, onde é mais privativo,
- b) Na sala de medicações, onde o profissional de enfermagem pode acompanhar e orientar,
- c) Na sala de inalação, pois se tiver dificuldade, fará inalação,
- d) Em local reservado, por ser mais privativo,
- e) Em local em que haja trocas de volumes de ar, ou local aberto.



4. *Uma boa amostra de expectoração é aquela que provém:*

- a) *Da árvore brônquica,*
- b) *Da faringe,*
- c) *De aspirações de secreções nasais e pulmonares,*
- d) *Da faringe, de secreções nasais e da árvore brônquica,*
- e) *Da saliva e pulmonar.*

5. *O volume ideal da amostra de expectoração é de :*

- a) *3 a 4 ml*
- b) *2 a 5 ml*
- c) *5 a 10 ml*
- d) *10 a 20 ml*
- e) *15 a 20 ml*

6. *A orientação para a colheita de expectoração é a seguinte:*

- a) *Expectorar o quanto puder, no escarrador,*
- b) *Respirar fundo, segurar o ar o máximo possível e por fim, expectorar no escarrador. Repetir este procedimento, se necessário,*
- c) *Inspirar profundamente, reter o ar por alguns instantes, tossir e expectorar no escarrador. Repetir este procedimento por três vezes até atingir a quantidade necessária,*
- d) *Inspirar profundamente, reter o ar por alguns instantes, tossir por três vezes e expectorar no escarrador a quantidade necessária,*
- e) *Inspirar profundamente, reter o ar por alguns instantes, tossir o máximo possível, para que se consiga o máximo de secreção e, por fim, expectorar no escarrador de colheita.*

7. *Na colheita de expectoração:*

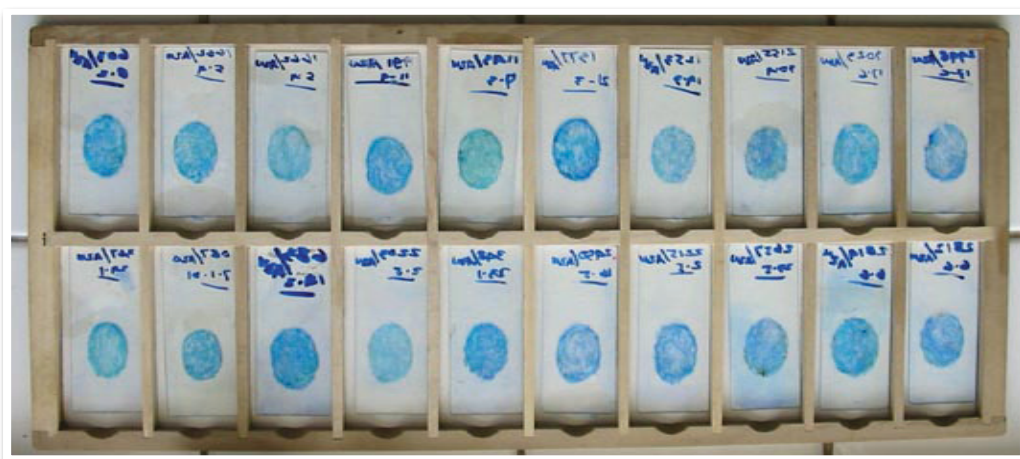
- a) *Todos os doentes com secreção têm muita facilidade de colher a amostra,*
- b) *Independente de idade e de sexo, todos conseguem colher a amostra,*
- c) *Mulheres, crianças e portadores de HIV e SIDA têm dificuldade de colher a amostra,*
- d) *Quanto mais idoso, mais facilidade de colher a amostra,*
- e) *Com a orientação correcta, todos conseguem colher a amostra.*



8. A segunda amostra de colheita de expectoração deve ocorrer logo ao despertar porque:
- Deve-se ter um período para colher uma amostra diferente da primeira;
 - Se obtém uma amostra mais abundante pois as secreções pulmonares se acumulam durante a noite;
 - A quantidade de tosse é maior do que no restante do dia;
 - Durante o dia, quando o doente/paciente está activo, tem que tossir mais para se colher a amostra;
 - Todas estão correctas.
9. Os bacilos que conseguem atingir os alvéolos e causar infecção pulmonar são:
- Os provenientes da tosse, fala e espirro do doente;
 - As gotículas de Flügger;
 - Os núcleos de Wells (aerossóis);
 - Os das gotículas de Flügger e dos núcleos de Wells;
 - Todas as alternativas anteriores;

Parte - IV

1. Dada a figura a baixo diga como classifica o tamanho dos esfregaços e identifique outros problemas?

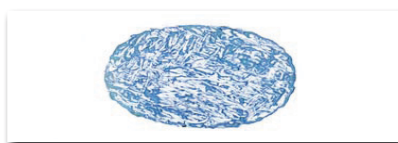


R/ _____



2. Diga qual é o tamanho ideal?

2 x 3 cm



A

1 x 2 cm



B

R: _____

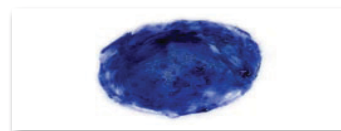
3. No que se refere a espessura dos esfregaços, qual deles classifica como demasiado fino, bom e demasiado espesso?



A _____



B _____



C _____

4. Dados os esfregaços abaixo, identifique o problema de cada um.



1



2



3



4

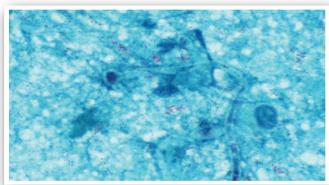


5

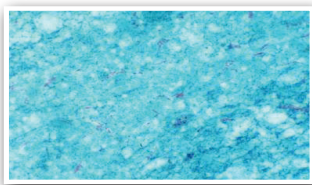
R: _____



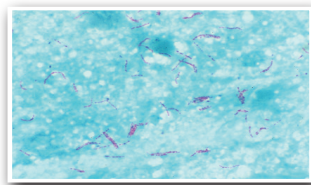
5. Dadas as figuras abaixo explique qual é o efeito do tempo da fucsina na intensidade de BAAR?



2 min.



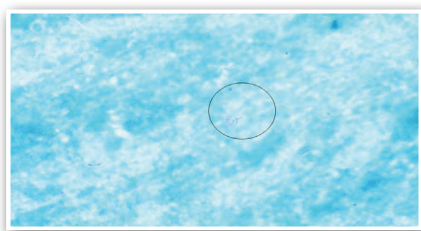
3 min.



5 min.

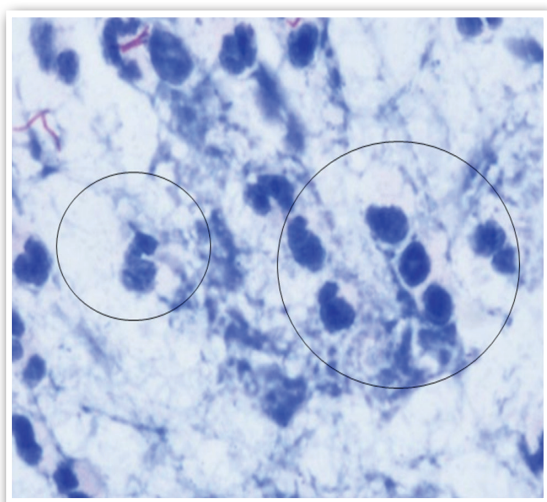
R: _____

6. Dada a figura abaixo explique qual é o efeito do não aquecimento da fucsina até produzir vapor?

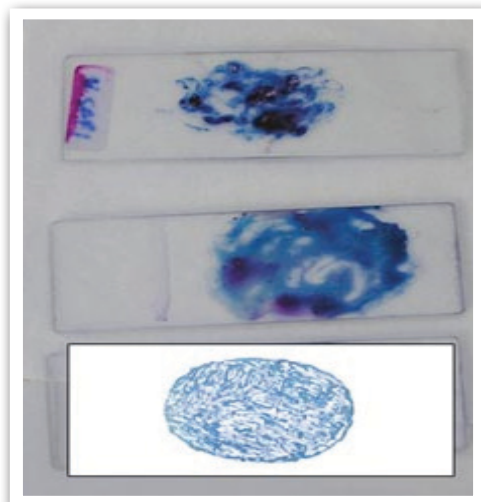


R: _____

7. Qual das situações explica a figura abaixo: descoloração por mais de um minuto e concentração de azul de metileno maior que 0,3%?



A



B

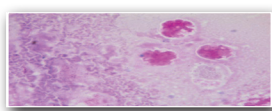
R: _____



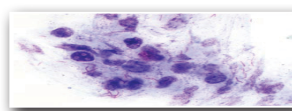
8. Que fenómeno explica as imagens das figuras abaixo: descoloração correcta, descoloração insuficiente, riscos e aranhões no vidro da lâmina, fixação excessiva pelo calor, depósito de fumo na face inferior da lâmina.



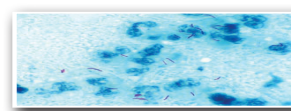
A



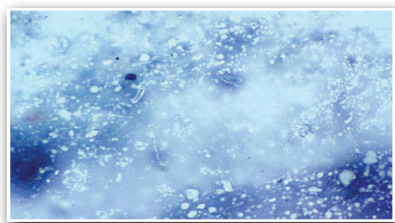
B



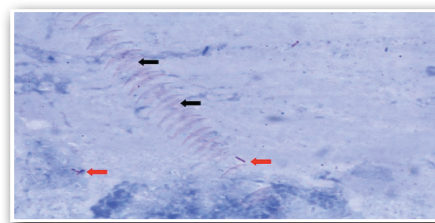
C



D



E



F



G

R:

A _____ B _____

C _____ D _____

E _____ F _____

G _____

9. Diga quais são as possíveis implicações que esses erros da preparação de esfregaços podem ter no resultado? E como evitá-los?

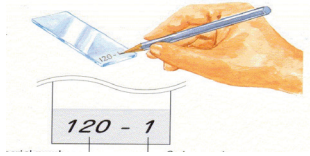
R: _____

10. Mencione outras situações incorrectas acima apresentadas

R: _____



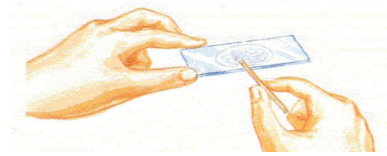
1. Dadas as figuras abaixo que se referem aos procedimentos da baciloscopia descreva cada uma delas:



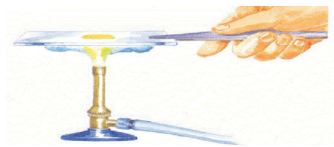
A _____



B _____



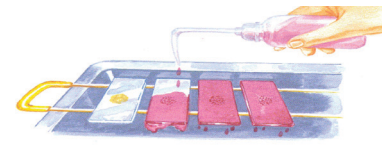
C _____



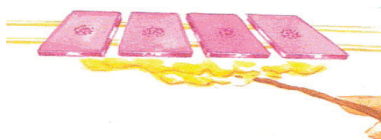
D _____



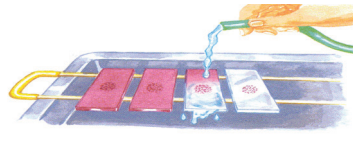
E _____



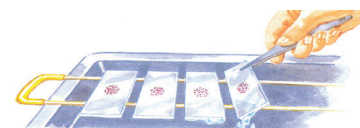
F _____



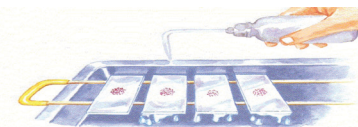
G _____



H _____



I _____



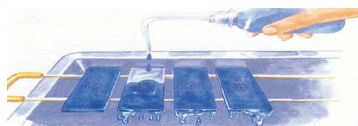
J _____



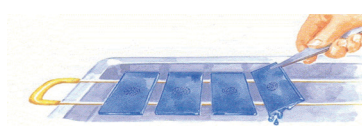
L _____



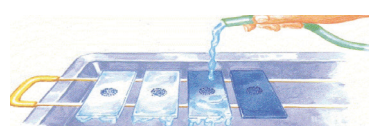
M _____



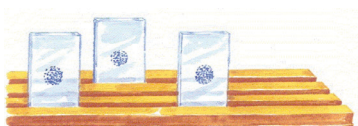
N _____



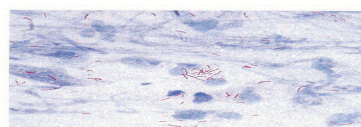
O _____



P _____



Q _____



R _____



Parte - VI

1. Dados os papéis quadriculados para leitura microscópica de lâminas, preencha-os e dê o resultado final.

Observado por: _____

Data: ___ / ___ / ___

Laboratório: _____ A _____

Diagnóstico _____ C.Q. _____

Lâmina No. _____

0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	2	0

No. de bacilos _____
 No. de campos _____
 Média _____
 Resultado _____

Laboratório: _____ B _____

Diagnóstico _____ C.Q. _____

Lâmina No. _____

0	0	0	7	0	12	7	0	9	8
2	0	9	8	9	6	0	7	56	8
7	8	4	9	0	8	0	15	0	6
9	7	8	6	7	0	7	0	9	7
0	6	0	0	8	13	9	15	10	4

No. de bacilos _____
 No. de campos _____
 Média _____
 Resultado _____

Laboratório: _____ C _____

Diagnóstico _____ C.Q. _____

Lâmina No. _____

9	7	9	6	6	8	9	18	26	9
6	9	8	7	8	9	8	46	50	1
8	8	6	9	6	7	8	30	40	8

No. de bacilos _____
 No. de campos _____
 Média _____
 Resultado _____

Laboratório: _____ D _____

Diagnóstico _____ C.Q. _____

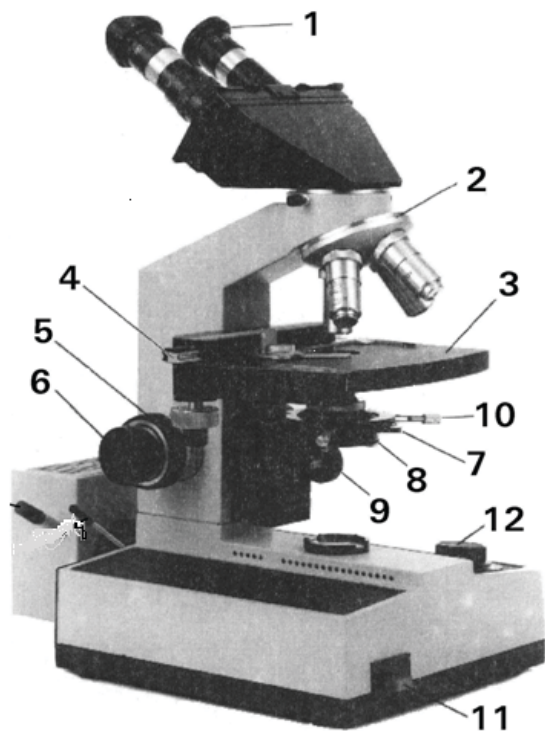
Lâmina No. _____

1	0	0	0	8	1	0	3	0	0
0	0	2	5	0	0	0	0	0	3
2	0	0	4	0	0	0	4	0	0
0	5	0	0	1	1	3	0	0	0
0	0	1	0	0	0	2	0	3	0
2	0	0	3	1	0	0	0	6	0
0	0	1	0	0	1	0	1	0	0
0	0	0	2	0	0	1	0	1	0
3	1	0	1	0	3	0	6	0	3
0	2	3	0	1	2	0	1	0	1

No. de bacilos _____
 No. de campos _____
 Média _____
 Resultado _____



2- Dada a figura abaixo que representa um microscópio óptico, preencha a legenda:



Legenda:

- | | | |
|----------|----------|----------|
| 1 _____ | 2 _____ | 3 _____ |
| 4 _____ | 5 _____ | 6 _____ |
| 7 _____ | 8 _____ | 9 _____ |
| 10 _____ | 9 _____ | 10 _____ |
| 11 _____ | 12 _____ | |



Guia de Correção dos Exercícios

Parte - I

- 1- *Descrição dos procedimentos para colheita de amostras de expectoração para pesquisa laboratorial do *Micobacterium tuberculosis*.*
- 2- *Identificação das figuras;*
 - 2.1. *Lavar a boca com água limpa (buchechar) para retirar partículas alimentares;*
 - 2.2. *Abrir o escarrador;*
 - 2.3. *Inspirar, reter o ar no pulmão por alguns segundos e expirar pela boca lentamente;*
 - 2.4. *Inspirar de novo, reter o ar no pulmão por alguns segundos e expirar pela boca com força;*
 - 2.5. *Inspirar e reter o ar no pulmão por alguns segundos, expirar com força e tossir; colocar a expectoração no escarrador, fechar bem a tampa e guardar num local escuro, fora do alcance das crianças.*

Parte - II

- 1- A) Mucopurulenta B) Hemoptóica C) Mucóide D) Saliva

Parte - III

- 1- E) 2- E) 3- E) 4- A) 5- C) 6- C) 7-C) 8-B) 9-C)

Parte - IV

- 1- *O tamanho é regular, ou seja bom, porém o problema está no facto das lâminas terem sido marcadas por um marcador à tinta, em vez de serem marcadas com lápis de diamante ou de carvão; pois durante a coloração a tinta pode descorar com soluções álcool-ácido e perder-se a identificação das lâminas.*



- 2 - B)
- 3 - A-Bom B - Demasiado fino C - Espesso
- 4 - 1- O problema está no facto da lâmina ter sido marcada com um marcador à tinta (feltro),
2 - O tamanho do esfregaço não é ideal, pois é demasiado grande,
3 - O esfregaço é demasiado fino,
4 - O esfregaço não se encontra no centro da lâmina,
5 - Uma lâmina com diferentes esfregaços aumentando a probabilidade de contaminação e de erro.
- 5 - A fucsina não adere às micobactérias em apenas 2 minutos; aos 3 minutos fica um pouco aderente; e aos cinco minutos fica mais aderente, tornando mais visíveis as micobactérias.
- 6 - Quando não se aquece a fucsina fica pouco aderente à parede celular das micobactérias, pois com o aquecimento, o calor faz com que a fucsina penetre através da parede celular (bicamada lipídica) das micobactérias para o interior (citoplasma celular).
- 7 - A- Descoloração por mais de um minuto;
B- Concentração excessiva de azul de metileno (maior que 0,3%).
- 8 - A, B e C- Descoloração insuficiente; D- Descoloração correcta; E- Fixação excessiva;
F- Riscos e aranhões na lâmina; G- Depósito de fumo na face inferior da lâmina.
- 9 - As possíveis implicações desses erros resultantes da má preparação das lâminas são: podem induzir a falsos positivos ou falsos negativos. Daí que para evitar estes tipos de erros deve-se observar rigorosamente os procedimentos técnicos descritos nos Procedimentos Operacionais Padrão de baciloscopia.
- 10 - Outras situações incorrectas acima mencionadas são:
Na figura G- tamanho irregular dos esfregaços, marcação das lâminas com marcadores a tinta (feltro), em vez de lápis de diamante ou de carvão.



1. *A - Processo de marcação da lâmina,*
B - Retirada da expectoração do escarrador através da ansa,
C - Preparação do esfregaço,
D - Fixação do esfregaço na chama,
E - Colocação das lâminas sobre um suporte para coloração,
F - Cobertura da lâmina com fucsina a 0,3%,
G - Passagem da chama por baixo das lâminas,
H - Lavagem das lâminas com água corrente,
I - Retirada do excesso da água das lâminas,
J - Descoloração com solução álcool –ácidas ou ácido sulfúrico a 20%,
L - Lavagem com água corrente,
M - Retirada do excesso de água,
N - Colocação da solução de azul-de-metileno a 0,3%,
O - Retirada do excesso da solução de azul-de-metileno,
P - Lavagem com água corrente,
Q - Secagem das lâminas ao ar livre,
R - Observação das lâminas ao microscópio.



Parte - VI

1.

- A) N° de bacilos = 7; N° de campos = 100; Média= 7/100 → 0,07 por campo;
Resultado: 7 bacilos em 100 campos
- B) N° de bacilos= 330; N° de Campos = 50; Média= 330/50 → 6,6 bacilos por campo;
Resultado: ++
- C) N° de bacilos= 389; N° de Campos = 30; Média= 389/30 → 12,97 bacilos por campo;
Resultado: +++
- D) N° de bacilos = 95; N° de campos = 100; Média = 95/100 → 0,95 bacilos por campo;
Resultado: +

2. Legenda:

- | | | |
|---------------------------|--|-----------------------------|
| 1 - Ocular | 6 - Parafuso micrométrico | 11 - Fonte luminosa |
| 2 - Revólver | 7 - Diafragma | 12 - Controlo de iluminação |
| 3 - Mesa ou Platina | 8 - Condensador | |
| 4 - Comando | 9 - Botão do condensador | |
| 5 - Parafuso macrométrico | 10 - Dois parafusos centralizadores do condensador | |



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

1. Cobertt E. L. et al. (2003). *The growing burden of tuberculosis: the global trends and interaction with HIV Epidemic* - Department Of Infectious And Tropical Diseases, London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, Englad, UK. 163 (9): 1009-21
2. Campelo C. L. et al. (2001). *Tuberculose – Diagnóstico Laboratorial – Baciloscopia*. Serie TELELAB. Ministério da Saúde. Brasília. 72p.
3. Dye, Christopher (2006) *Global Epidemiology Of Tuberculosis*. Essay Focus. Geneva. 938-40 p.
4. Gueiter, L. (2007). *Rethinking The Epidemiology Of Tuberculosis Infection- Public health Implications Of Studies With Assay That Use Specific TB Antigens*.
5. Isemberg, H. D. (2004). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 2nd Edition. ASM Press. Washington D.C.
6. Keeler, E. et. al.(2006). *Reducing The Global Burden Of Tuberculosis: The Contribution Of Improved Diagnostics*. Nature. International Weekly Journal Of Science. 49-57p.
7. Ministério da Saúde (2008). *Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da Tuberculose e outras Micobactérias*. 1ª Edição. Brasília. 436p .
8. Ministério da Saúde (2007). *Tuberculose Multiresistente- Guia de Vigilância Epidemiologica*. 1ª Edição. Secretaria de Vigilância em Saúde.Centro de Referência Professor Helio Fraga. Projecto MSH. Rio de Janeiro. Brasil. Brasília. 90p.
9. Ministério de Saúde-MISAU (2007). *Plano Estratégico Nacional de Controlo da Tuberculose Em Moçambique Para o Período de 2008- 2012*. Direcção Nacional de Promoção de Saúde e Controlo de Doenças. Maputo. Moçambique. 73p.
10. *Relatório de uma Cimeira Urgente da África Austral em Matéria de Advocacia sobre Tuberculose e o HIV (2007) Enfrentando a Crise de Tuberculose/HIV na África Austral: Uma Agenda em Matéria de Advocacia Para os Governos, Trabalhadores de Saúde, Investigadores, Sociedade Civil, Agências Regionais e Internacionais*. Joanesburgo. África do Sul. 26 p.
11. Takao E. K. H. et al. (2005). *Comparação de Métodos de Cultivo para o Diagnóstico Laboratorial da Tuberculose Pulmonar*. Acta Sci. Health Sci., (27): 2, 183-188 p.
12. Viveiros, M. & Atouguia, J. (2007) *Tuberculose- Saúde Tropical*. Universidade Aberta. Lisboa. 155p.
13. World Health Organization-WHO (2003). *Global Tuberculosis Control*. Geneva.





USAID
FROM THE AMERICAN PEOPLE

TB CARE I

fhi360
THE SCIENCE OF IMPROVING LIVES