



Tipo do Documento	<b>PROCEDIMENTO / ROTINA</b>	POP.UACAP.004 – Página 1/5	
Título do Documento	<b>MICROBIOLOGIA: PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS PARA CULTURA</b>	Emissão: 04/09/2025 Versão: 03	Próxima revisão: 04/09/2027

## 1. OBJETIVO

- Descrever a técnica empregada na UACAP para processamento de amostras destinadas à cultura no setor de Microbiologia.

## 2. MATERIAL

- Meios de cultura: BHI (Brain Heart Infusion), CLED (Cystine Lactose Electrolyte Deficient), Sangue de carneiro 5%, MacConkey, Chocolate 5% com VITOX 2%, Mueller-Hinton, Sabouraud, Salmonella-Shigella, Chromagar levedura, Caldo Tetrionato, Swab com meio de transporte Stuart);
- Alças calibradas estéreis de inoculação (1 µL e 10 µL);
- Swab estéril;
- Pinça estéril;
- Amostra biológica;
- Estufa de incubação;
- Lâmina de bisturi;
- Jarra e gerador de microaerofilia;
- Placa de Petri estéril;
- Hidróxido de sódio 4%.

## 3. DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

### 3.1. Orientação geral sobre semeadura em meios de culturas

- 1º Organizar as placas à temperatura ambiente, sobre a bancada conforme o material a ser semeado;
- 2º Identificar as placas com a etiqueta de identificação do paciente ou com o número do paciente, as iniciais do nome e a data da semeadura;



Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.UACAP.004 – Página 2/5	
Título do Documento	MICROBIOLOGIA: PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS PARA CULTURA	Emissão: 04/09/2025	Próxima revisão: 04/09/2027
		Versão: 03	

3º Homogeneizar o material quando líquido (urina, LCR, sangue, líquido pleural, ascítico, aspirado traqueal, etc.);

4º Escolher a porção mais purulenta no caso de secreções, ou no caso de fezes, a parte com sangue, muco ou pus;

5º Semear as amostras em meio sólido (placa com ágar) através de volume definido pela técnica com alça calibrada (observar a integridade da película formada) ou por gotejamento utilizando seringa com agulha, depositando a amostra na parte superior da placa, e distribuir o material em linha reta até a outra extremidade. Em seguida, perpendicularmente, distribuir o material por toda a superfície de maneira uniforme;

- **OBS1:** Os swabs deverão ser rolados sobre os meios de cultura, seguindo a sequência dos mais ricos para os mais seletivos;

- **OBS2:** O estriamento quaternário é realizado para obter um gradiente decrescente de concentração do inóculo. Essa técnica é realizada somente para reisolamento de micro-organismo ou quando o volume semeado é abundante (líquidos por gotejamento).

### 3.2. Técnica de semeadura por tipo de cultura

- **Fungos ou micobactérias:** estriar o material por toda superfície do ágar com swab ou alça estéril. Para fungos semear em ágar sabouraud e para micobactérias semear em meio Ogawa.

- **OBS:** quando as amostras para a cultura de micobactérias estiverem contaminadas com flora, devem ser previamente descontaminadas com Hidróxido de sódio 4% (escarro, urina, aspirado gástrico, lavado bronco-alveolar, aspirado traqueal).

- **Coprocultura:** com auxílio de alça bacteriológica de 10uL, pegar de 1 a 3 g da amostra de fezes e inserir no tubo contendo caldo Tetracionado e homogeneizar vigorosamente. Incubar a 35±1°C por 12 a 18 horas e depois semear em ágar SS por estriamento quaternário.

- **Lavado broncoalveolar:** Homogeneizar o material antes da semeadura. Semear 1 µL com alça calibrada em ágar Sangue e ágar MacConkey.

- **Aspirado traqueal:** Homogeneizar o material antes da semeadura. Semear 1 µL com alça calibrada em ágar Sangue e ágar MacConkey.

- **Líquido Cefalorraquidiano** (pode ser processado de duas formas):

- Inoculado diretamente no meio: colocar de 5 a 10 gotas da amostra em duas placas com ágar chocolate 5% suplementado e fazer o estriamento com alça estéril por toda a



Tipo do Documento	<b>PROCEDIMENTO / ROTINA</b>	POP.UACAP.004 – Página 3/5	
Título do Documento	<b>MICROBIOLOGIA: PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS PARA CULTURA</b>	Emissão: 04/09/2025	Próxima revisão: 04/09/2027
		Versão: 03	

superfície. A incubação de um ágar chocolate suplementado deve ser feita em jarra de microaerofilia (colocar a placa dentro da jarra; tirar o lacre de uma unidade do gerador de microaerofilia; despejar 15 mL de água sobre a unidade – se não tiver colocar uma vela acesa; lacrar a jarra; incubar na estufa bacteriológica) e a incubação do outro ágar chocolate 5% suplementado deve ser feita diretamente na estufa;

➤ **Inoculado em frasco com meio para hemocultura:** Inserir de 1 a 3 mL da amostra de líquido em um frasco de hemocultura e em seguida incubá-lo no Bactec FX. Sendo esse o meio mais eficaz para isolamento do agente patogênico.

- **OBS:** O líquido deverá ser processado em até 2 horas, em temperatura ambiente.

- **Ponta de cateter vascular central:** rolar o segmento distal do cateter de 4 a 5 vezes sobre a superfície de uma placa de ágar-sangue e depois sobre a placa de ágar MacConkey, com auxílio de uma pinça estéril (método descrito por Maki).
- **Hemoculturas positivas:** Colocar de 3 a 5 gotas da amostra e estriar pela superfície do ágar sangue e MacConkey.
- **Urina:** utilizar alça calibrada de 1 µL e semear em Ágar CLED e Ágar MacConkey.
- **Secreção vaginal, endocervical e uretral:** Utilizar swab ou a alça estéril para semear em Ágar Sangue e Ágar MacConkey.
- **Amostras sólidas (biópsias, gânglios, amostras de tecidos, etc.):** Fragmentar o material com uma lâmina, inserir o fragmento em caldo BHI e acondicionar na estufa (+/- 35°C) por 12-24 horas. Em seguida, semear a porção líquida em Ágar Sangue e Ágar MacConkey.
- **Swab Retal (Cultura de vigilância):** Adicionar um disco de ertapenem (10 µg) em um tubo de caldo BHI com auxílio de uma pinça estéril e inocular o swab retal dentro do caldo. Cortar o excesso da haste do swab, fechar o tubo e incubar por 12 – 18 horas em estufa a 36°C +/-1Cº. Em seguida semear a porção líquida em ágar MacConkey por esgotamento e aplicar sobre a superfície do meio já semeado um disco de ertapenem no início das estrias. Incubar por 24 horas e seguir com avaliação: as colônias de bactérias da família Enterobacterales que crescerem dentro do halo de inibição do ertapenem (<=23 mm) deverão ser identificadas pelo sistema BD Phoenix/Epicenter. Para as bactérias não-fermentadoras da glicose, deverá ser feito um inóculo a 0,5 de MacFarland e semeá-lo em um novo ágar MacConkey por esgotamento e aplicar sobre a superfície do meio já semeado um disco de imipenem e um de meropenem. Incubar por 24 horas e seguir com avaliação: as colônias que crescerem dentro do halo de inibição do imipenem (<=20 mm – *Pseudomas* spp. ou <=21 mm – *Acinetobacter* spp.) e/ou dentro do halo de inibição do meropenem (<=14 mm – *Pseudomas* spp. ou <=15 mm – *Acinetobacter* spp.) deverão ser identificadas pelo sistema BD Phoenix/Epicenter.

Tipo do Documento	<b>PROCEDIMENTO / ROTINA</b>	POP.UACAP.004 – Página 4/5	
Título do Documento	<b>MICROBIOLOGIA: PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS PARA CULTURA</b>	Emissão: 04/09/2025	Próxima revisão: 04/09/2027
		Versão: 03	

- **Casos especiais:** Para outros materiais escassos colhidos com swab em meio de transporte (material de vesículas, swab de córnea ou conjuntiva, uretral, etc.), pode-se semear diretamente o swab nos meios de cultura indicados, geralmente são utilizados ágar sangue e ágar macConkey.

### 3.3. Incubação

A incubação deve seguir alguns parâmetros determinados:

- Atmosfera:
  - Para bactérias não exigentes em secreções, urina, fezes, etc. incubar em estufa em atmosfera ambiente.
  - Para bactérias exigentes tais como: pneumococos, hemófilos e Neisserias ou fastidiosos incubar em microaerofilia (jarra com gerador de microaerofilia de modo a obter 3-5% de CO<sub>2</sub>).
- Temperatura: 36°C +/- 1°C é a temperatura para a grande maioria das bactérias da rotina. Fungos podem ser cultivados a 32°C +/- 2°C.
- Tempo: Em geral, a primeira leitura é realizada com 12 a 24 horas de incubação. Para negativar cultura de bactérias a leitura é realizada com 48 horas de incubação. Para fungos filamentosos o tempo de incubação é em média 30 dias para negativar.
- **OBS:** A cultura para micobactérias é enviada para laboratório de apoio após a semeadura.

### 3.4. Leitura

Para leitura observar pureza, tamanho, cor e características diferenciais (como produção de hemólise, fermentação da lactose, produção de H<sub>2</sub>S, entre outras) das unidades formadoras de colônias que cresceram nos meios de cultura.

- ***Avaliação do crescimento e contagem das culturas quantitativas***

Converter o número de UFC contadas em UFC/mL, conforme o material analisado, utilizando o fator de correção do volume:

- 1 µL – multiplicar por 1000
- 10 µL – multiplicar por 100

- **OBS:** em culturas semi-quantitativas e qualitativas não se padroniza o volume do inóculo e semeia-se o swab e/ou o material mais representativo com a alça, com a finalidade apenas de obter colônias isoladas para posterior identificação (secreções cutaneomucosas, fezes etc.).



Tipo do Documento	<b>PROCEDIMENTO / ROTINA</b>	POP.UACAP.004 – Página 5/5	
Título do Documento	<b>MICROBIOLOGIA: PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS PARA CULTURA</b>	Emissão: 04/09/2025	Próxima revisão: 04/09/2027
		Versão: 03	

#### 4. REFERÊNCIAS

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

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada a Assistência à saúde. Módulo 3 – Principais Síndromes Infecciosas.** Brasília: Anvisa, 2013.

#### 5. HISTÓRICO DE REVISÃO

VERSÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO
01	24/06/2021	Elaboração do POP
02	08/08/2023	Revisão do POP
03	06/06/2025	Revisão do POP

<b>Elaboração</b> Letícia Cristina Limiere Janaina Narcizo Rodrigues	Data: 24/06/2021
<b>Revisão</b> 2ª Versão: Janaina Narcizo Rodrigues Letícia Cristina Limiere 3ª Versão: Nathalie Gaebler Vasconcelos Janaina Narcizo Rodrigues	Data: 08/08/2023 Data: 06/06/2025
<b>Validação:</b> Fuad Fayez Mahmoud – STGQ	Data: 29/08/2025
<b>Aprovação:</b> Viviane Regina Noro – Chefe da UACAP Tiago Amador Correia - GAS	Data: 31/07/2025 Data: 04/09/2025

Assinado eletronicamente no processo SEI23529.011397/2023-14