

PROVA ESCRITA – PADRÃO DE RESPOSTA

1-Um médico-veterinário remeteu uma amostra da secreção nasal de um equino para análise laboratorial. Foi solicitada a realização de cultura e antibiograma desse material. No laboratório foram realizadas coloração de Gram e cultura em meio seletivo e diferencial.

a) Comente sobre o mecanismo de coloração utilizado para esta análise.

A coloração de Gram serve para diferenciar bactérias Gram-positivas de bactérias Gram-negativas, sendo que esses dois grupos possuem diferenças na parede celular que as compõe. Com essa coloração é possível observar o formato das bactérias (coco, bacilo, cocobacilo, entre outros), assim como o seu arranjo.

Na coloração de Gram, o primeiro corante a ser utilizado é o azul/cristal violeta e logo depois utilizado o fixador Lugol. Nessa etapa, tanto bactérias Gram positivas como bactérias Gram negativas conseguem absorver o corante. Porém, logo após essa primeira coloração, é feita uma lavagem com álcool/éter acetona e devido a diferença da parede celular das bactérias Gram negativas e Gram positivas, vai ocorrer a remoção do cristal violeta ou não.

Em bactérias Gram positivas, devido a camada mais espessa de peptidoglicano há uma maior resistência a danos, assim, quando feito o tratamento com o álcool/éter acetona o corante primário é retido.

Já bactérias Gram negativas, possuem uma parede celular mais complexa e com a presença de uma quantidade maior de lipídeos, assim, quando utilizado o tratamento com álcool/éter acetona, ocorre a extração dos lipídeos presentes (dissolve a membrana externa) e um aumento da permeabilidade e conseqüentemente a remoção do corante cristal violeta.

Assim, na última etapa, quando utilizado o segundo corante, a fucsina (de coloração rosa), as Bactérias Gram negativas acabam se corando, enquanto as bactérias Gram positivas que já retiveram o primeiro corante não e com isso conseguimos ver a diferença da coloração desses dois grupos bacterianos no microscópio.

b) Qual a diferença entre os meios de cultura, exemplificando-os.

Os meios de cultura quanto a sua funcionalidade, podem ser classificados como: meio diferencial, meio seletivo e o meio de transporte.

O meio seletivo ele é utilizado para selecionar determinados grupos de microrganismos, contendo inibidores que restringem o crescimento de algumas bactérias e favorecem outros, como por exemplo o Ágar MacConkey que inibe o crescimento de bactérias Gram positivas e favorece o crescimento de bactérias Gram negativas.

Os meios de cultura diferenciais permitem distinguir microrganismos devido a alguma característica, como por exemplo, o Ágar Sangue que difere bactérias hemolíticas de não hemolíticas e o próprio Ágar MacConkey que difere bactérias Gram negativas fermentadoras de Lactose de não fermentadoras.

c) Tempo e temperatura de incubação.

O tempo e a temperatura de incubação de uma amostra são essenciais para determinar o crescimento bacteriano. Algumas bactérias possuem um metabolismo mais acelerado e crescem em períodos entre 16-24h de incubação, como por exemplo *Staphylococcus* e *Escherichias coli*. Outros microrganismos precisam de um tempo maior de incubação, como as bactérias fastidiosas, que demoram de 48h a 72h para seu crescimento, como por exemplo *Streptococcus* e *Corynebacterium*. Além disso, existem microrganismos de crescimento lento devido a composição mais complexa da sua parede celular, podendo demorar de 30-60 dias para o crescimento, como por exemplo o *Mycobacterium*.

Já em relação a temperatura, as bactérias podem ser divididas em: **psicrófilas**, que se multiplicam em temperaturas abaixo de 20°C, como por exemplo a *Listeria*; bactérias **mesófilas**, que se multiplicam entre 20 e 45°C, mas tendo a temperatura ótima de crescimento a 37°C, sendo a maioria das bactérias patogênicas; e as **termófilas**, que se multiplicam em temperaturas acima de 45°C.

No caso do exemplo citado, em uma amostra biológica, salvo algumas exceções (e devidamente solicitado ou sugerido na requisição dos exames), **a maioria das amostras biológicas são incubadas a 37°C, já que grande maioria das bactérias patogênicas são mesófilas, e incubadas por 24-48h.**

d) Classifique as bactérias em relação a atmosfera de crescimento.

De acordo com a atmosfera, as bactérias podem ser:

Aeróbias estritas: necessitam do oxigênio para sobreviver, pois a sua principal fonte de energia vem da respiração aeróbica, como por exemplo o *Mycobacterium* e a *Pseudomonas*.

Anaeróbicas obrigatórias: onde o oxigênio é “tóxico” para a bactéria, como por exemplo os *Clostridium*.

Anaeróbicas facultativas: são as bactérias que se adaptam as condições do ambiente em que se encontram, preferindo a respiração aeróbica, mas também realizando a fermentação ou respiração anaeróbica na ausência do oxigênio, como por exemplo a *E. coli* e o *Staphylococcus*.

Microaerófilas: necessitam de oxigênio, mas em concentrações menores (10 a 20%), como por exemplo o *Campylobacter*.

2- A ocorrência de microrganismos resistentes às diversas classes de antimicrobianos tem sido progressiva nas últimas décadas, representando uma grave ameaça à saúde pública em todo o mundo. Com impactos importantes na saúde humana e dos animais, essa questão torna necessária a utilização da abordagem chamada “Saúde Única” (One Health), que envolve a coordenação entre vários setores, incluindo medicina humana e veterinária, agricultura e meio ambiente (ANVISA, 2023).

a) Comente sobre os mecanismos de resistência das bactérias frente aos antimicrobianos.

Os principais mecanismos de resistência bacteriana frente aos antimicrobianos são: Diminuição da concentração intracelular de antimicrobianos na célula bacteriana, que pode ocorrer através da diminuição da permeabilidade, principalmente pela perda ou alteração de porinas (uma proteína presente na estrutura bacteriana), ou através de bombas de efluxo que levam a extrusão de substâncias para fora da célula bacteriana, porém, esse mecanismo acarreta num gasto de energia para a bactéria. Outro mecanismo de resistência é a alteração no sítio de ação do antimicrobiano, impedindo que ele se ligue corretamente e faça sua função. A degradação do antimicrobiano por enzimas é mais um mecanismo que pode ocorrer, sendo a enzima betalactamase a mais comum, presente tanto em bactérias Gram positivas como em bactérias Gram negativas.

b) Quais são seus sítios de ação.

Os sítios de ação dos antimicrobianos são:

Inibição da síntese da parede celular, sendo a classe dos beta-lactâmicos a principal representante; **a inibição da síntese proteica**, podendo agir tanto na subunidade 30S como na subunidade 50S do ribossomo bacteriano, como por exemplo a classe dos aminoglicosídeos e dos macrolídeos; **inibição da síntese do DNA**, agindo principalmente na DNA girase e na Topoisomerase IV, como por exemplo as fluoroquinolonas; **alteração da membrana plasmática**, sendo as polimixinas as principais representantes, e por último, mas não menos importante, a **atividade antimetabólica**, agindo principalmente na síntese do ácido fólico, essencial para produção de DNA e RNA bacteriano, como por exemplo a sulfonamidas.

3- A esterilização, desinfecção e sanitização, são termos muito usados, na clínica veterinária, laboratórios, criação animal, agroindústria de produtos de origem animal e outras atividades relacionadas a veterinária.

a) Conceitue-os.

A esterilização é processo que elimina todas as formas de vidas dos microrganismos, incluindo bactérias, vírus, fungos e os esporos, tornando a superfície ou o objeto totalmente livre de microrganismos. A desinfecção tem por objetivo reduzir ou eliminar totalmente microrganismos patogênicos, não tendo a capacidade de eliminar os esporos bactérias. Já a sanitização reduz a população bacteriana a níveis seguros para o homem e/ou animal, porém não consegue eliminar completamente os microrganismos. Termo utilizado para indústria de alimentos.

b) Exemplifique a melhor forma de esterilização pelo calor seco e calor úmido.

Exemplo de calor úmido é a esterilização por autoclave, já para o calor seco são os fornos, como o forno de Pasteur. Deve-se optar pela autoclave quando for esterilizar matérias de vidro que não sejam graduados e materiais que não sofram oxidação, como por exemplo, meios de cultura, luvas, líquidos, entre outros. Já o calor seco, deve ser utilizado para vidrarias graduadas, pois assim não há dilatação do material e conseqüentemente a alteração da graduação, materiais pontiagudos e cortantes ou outros materiais que sofram algum tipo de dano pelo vapor sob pressão.

4- Fungos são organismos eucarióticos e heterotróficos encontrados em diversos nichos ecológicos, como água, solo e ar, ou em relações de comensalismo/parasitismo com plantas e animais. Geralmente, os fungos convivem de forma harmoniosa com o corpo, mas podem provocar doenças quando conseguem driblar as barreiras de proteção do organismo.

Considerando as características dos principais grupos de fungos na medicina veterinária, assinale a alternativa correta: Letra D

- a) *Malassezia pachydermatis* é uma levedura não lipofílica, caracterizada por apresentar formato oval alongado.
- b) *Aspergillus* spp. são fungos filamentosos que consistem em hifas não septadas e estruturas de ramificação assexuadas características que nascem de conidióforos.
- c) Dermatófitos são mofo capazes de parasitar estruturas epidérmicas queratinizadas, e são produtores de hifas ramificadas não septadas, denominadas de micélio.
- d) *Cryptococcus neoformans* é uma levedura e possui células esféricas que normalmente produzem brotamento simples unidos por talos delgados e circundados por uma cápsula de polissacarídeo.**
- e) *Candida albicans* é um fungo anaeróbico obrigatório que geralmente se multiplica como leveduras com brotamentos ovais.

5- Um médico veterinário atendeu um canino, fêmea, 4 anos de idade, apresentando hipertermia, dor ao urinar, sangue na urina e prostração. Baseado nestes sinais clínicos:

- a) O que deverá ser levado em consideração para a escolha do material para análise microbiológica?**

Na hora de coletar material para análise microbiológica é fundamental que a amostra seja representativa da área ou órgão afetado, sendo de suma importância que esse material tenha a presença do microrganismo causador da possível infecção. No caso descrito, de acordo com os sinais clínicos, é possível suspeitar de uma infecção no sistema urinário, assim, o melhor material a ser coletado para análise é a urina do animal.

b) Quais os cuidados na coleta deste material?

Os principais cuidados na coleta da amostra são: evitar a presença de microrganismos contaminantes, realizando antissepsia no local da coleta (seja por cistocentese, sondagem ou micção natural), quem for coletar amostra é importante lavar as mãos e utilizar luvas, utilizar recipientes estéreis para o acondicionamento da amostra e realizar o transporte e armazenamento da amostra de forma adequada até chegar no laboratório para análise. Coletar quantidade suficiente para a realização do exame também é de suma importância para análise.

c) Como deverá ser coletado e encaminhado ao laboratório para análise?

É importante fazer a assepsia do local da coleta, de preferência com álcool 70%, utilizar seringa e agulhas estéreis e descartáveis, no caso de cistocentese. Urina coletada diretamente da bexiga (guiado por US), deve ser acondicionada em um pote estéril do tipo coletor de urina ou ainda, pode ser enviado na própria seringa desde que em condições adequadas. Para o envio no laboratório, se for envio imediato e o tempo para amostra chegar no laboratório não ultrapasse 2h é possível enviar a amostra em temperatura ambiente, caso contrário, a amostra deve ser mantida na geladeira até o envio e quando enviada deve estar refrigerada entre 2-8°C, não podendo nunca ser congelada. O ideal é que a amostra chegue ao laboratório em um prazo máximo de 24h, pois passando desse tempo, as chances de isolamento do microrganismo diminuem consideravelmente. É extremamente importante que a amostra seja devidamente identificada e todos os dados da solicitação sejam preenchidos, principalmente o método da coleta, o tipo de amostra, a espécie animal, os dados do paciente, se o paciente está ou não fazendo uso de antimicrobianos e a **suspeita clínica**.

Membros da Banca:

Avaliador 1 (Profa. Sandra M. Ferraz)

Avaliador 2 (Prof. David G. Schwarz)

Presidente da Banca (Prof. Ubirajara M. Costa)



Assinaturas do documento



Código para verificação: **24BK9L6Z**

Este documento foi assinado digitalmente pelos seguintes signatários nas datas indicadas:

- ✓ **UBIRAJARA MACIEL DA COSTA** (CPF: 450.XXX.470-XX) em 25/11/2024 às 11:52:14
Emitido por: "SGP-e", emitido em 30/03/2018 - 12:47:36 e válido até 30/03/2118 - 12:47:36.
(Assinatura do sistema)

- ✓ **SANDRA MARIA FERRAZ** (CPF: 752.XXX.610-XX) em 25/11/2024 às 11:59:36
Emitido por: "SGP-e", emitido em 30/03/2018 - 12:38:38 e válido até 30/03/2118 - 12:38:38.
(Assinatura do sistema)

- ✓ **DAVID GERMANO GONÇALVES SCHWARZ** (CPF: 040.XXX.149-XX) em 25/11/2024 às 13:12:28
Emitido por: "SGP-e", emitido em 03/04/2023 - 15:40:12 e válido até 03/04/2123 - 15:40:12.
(Assinatura do sistema)

Para verificar a autenticidade desta cópia, acesse o link <https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo/conferencia-documento/VURFU0NfMTlwMjJfMDAwNTA3NzRfNTA4MjVfMjAyNF8yNEJLOUw2Wg==> ou o site <https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo> e informe o processo **UDESC 00050774/2024** e o código **24BK9L6Z** ou aponte a câmera para o QR Code presente nesta página para realizar a conferência.