



Fundação Oswaldo Cruz

Concurso Público 2010

Tecnologista em Saúde Pública

Prova Objetiva

Código da prova

C3012

Micobactérias

Instruções:

- ▶ Você deverá receber do fiscal:
 - a) um caderno com o enunciado das 60 (sessenta) questões, sem repetição ou falha;
 - b) uma folha destinada à marcação das suas respostas.
- ▶ Ao receber a folha de respostas, você deve:
 - a) conferir se seu nome, número de identidade, cargo e perfil estão corretos.
 - b) verificar se o cargo, perfil e código da prova que constam nesta capa são os mesmos da folha de respostas. **Caso haja alguma divergência, por favor comunique ao fiscal da sala.**
 - c) ler atentamente as instruções de preenchimento da folha de respostas;
 - d) assinar a folha de respostas.
- ▶ É sua responsabilidade preencher a folha de respostas, que será o único documento válido para a correção.
- ▶ Você deverá preencher a folha de respostas utilizando caneta esferográfica de tinta azul ou preta.
- ▶ Em hipótese alguma haverá substituição da folha de respostas por erro cometido por você.
- ▶ As questões da prova são identificadas pelo número que se situa acima do enunciado.
- ▶ O tempo disponível para essa prova é de **4 (quatro) horas**, incluindo o tempo para a marcação da folha de respostas.
- ▶ Durante as primeiras duas horas você não poderá deixar a sala de prova, salvo por motivo de força maior.
- ▶ Você somente poderá levar o caderno de questões caso permaneça em sala até 30 (trinta) minutos antes do tempo previsto para o término da prova.
- ▶ Ao terminar a prova, você deverá entregar a folha de respostas ao fiscal e assinar a lista de presença.



FUNDAÇÃO
GETULIO VARGAS
FGV PROJETOS

Língua Portuguesa

Texto

A era do sustentável

Provavelmente a única chance de salvar efetivamente as florestas tropicais e aqueles que lá vivem é encontrar uma forma para que elas possam coexistir com a lógica do mundo moderno, inclusive no Brasil. Ambientalistas do mundo inteiro reconhecem, no íntimo, que nesses países de enormes desigualdades sociais, onde estão as últimas florestas tropicais intactas, a pressão sobre os recursos naturais é grande e as formas de fiscalização das eventuais leis de proteção são muito frágeis.

Esta lógica significa uma função econômica para a floresta, explorando-a sem destruí-la e sem exaurir seus recursos naturais. É nesta linha que o uso sustentado das florestas ganhou grande força na consciência dos formadores de opinião que defendem o meio ambiente.

É também neste caminho que várias experiências e inúmeras pesquisas estão ferverilhando no momento, pelo Brasil e pelo mundo afora. Aqui, vemos o trabalho nas reservas extrativistas, o fornecimento de matéria-prima para a indústria de cosméticos e farmacêutica, a exploração de madeira certificada.

O conceito de uso sustentado dos recursos naturais vai muito além das florestas, para hoje estar incorporado a todas as atividades da humanidade. O reciclar, reutilizar, substituir e otimizar deixaram de ser “moda” para se tornarem obrigação de quem deseja garantir a qualidade das futuras gerações.

(Peter Milko)

01

O pensamento nuclear do texto pode ser expresso do seguinte modo:

- (A) a exploração das florestas deve ser feita de maneira sustentável, sem que haja perdas futuras com a devastação da reserva natural.
- (B) para a salvação das florestas tropicais brasileiras, é indispensável definir uma estratégia que possa preservar ecossistemas, como a Mata Atlântica.
- (C) é indispensável, para a preservação das nossas florestas, a adoção de uma política preservacionista e do aprimoramento da fiscalização.
- (D) o Brasil precisa adotar urgentemente medidas que estejam no mesmo caminho das inúmeras pesquisas modernas.
- (E) o futuro de nossas florestas está dependente da adoção de medidas urgentes de preservação ambiental, que só pode ser obtida se for permitido um extrativismo limitado.

02

No título do texto ocorre o seguinte fato gramatical:

- (A) a modificação de classe gramatical do vocábulo sustentável.
- (B) o uso indevido de uma forma verbal como substantivo.
- (C) a utilização de um substantivo por outro.
- (D) o emprego inadequado de um adjetivo.
- (E) um erro de concordância nominal.

03

Como epígrafe deste texto aparece um pensamento de Lester Brown: “Uma sociedade sustentável é aquela que satisfaz suas necessidades, sem diminuir as perspectivas das gerações futuras”.

O segmento do texto que se relaciona mais de perto a esse pensamento é:

- (A) “Provavelmente a única chance de salvar efetivamente as florestas tropicais e aqueles que lá vivem é encontrar uma forma para que elas possam coexistir com a lógica do mundo moderno, inclusive no Brasil”.
- (B) “Ambientalistas do mundo inteiro reconhecem, no íntimo, que nesses países de enormes desigualdades sociais, onde estão as últimas florestas tropicais intactas, a pressão sobre os recursos naturais é grande e as formas de fiscalização das eventuais leis de proteção são muito frágeis”.
- (C) “Esta lógica significa uma função econômica para a floresta, explorando-a sem destruí-la e sem exaurir seus recursos naturais”.
- (D) “É nesta linha que o uso sustentado das florestas ganhou grande força na consciência dos formadores de opinião que defendem o meio ambiente”.
- (E) “O conceito de uso sustentado dos recursos naturais vai muito além das florestas, para hoje estar incorporado a todas as atividades da humanidade”.

04

O texto é um editorial de uma revista intitulada *Horizonte geográfico*.

A respeito do conteúdo desse texto é correto afirmar que:

- (A) trata-se de uma opinião pessoal sustentada por pesquisadores de todo o mundo.
- (B) refere-se a uma sugestão de atuação na área ambiental para o governo brasileiro.
- (C) mostra um caminho moderno para o desenvolvimento econômico.
- (D) apresentado no primeiro parágrafo, o assunto é analisado nos dois seguintes.
- (E) ainda que argumentativo, o texto carece de uma conclusão.

05

O título do texto fala da “era do sustentável”, referindo-se:

- (A) a um tempo distante, quando o equilíbrio ambiente / economia estará presente.
- (B) a um tempo passado, quando as florestas permaneciam intactas.
- (C) ao momento presente, quando a política da sustentabilidade é dominante.
- (D) à expressão de um desejo para a preservação das florestas tropicais.
- (E) a uma época imediatamente futura em que o meio ambiente ficará intacto.

06

Assinale a alternativa que apresente o adjetivo que indica uma opinião do enunciador do texto.

- (A) Recursos naturais.
- (B) Reservas extrativistas.
- (C) Inúmeras pesquisas.
- (D) Futuras gerações.
- (E) Única chance.

07

“Provavelmente a única chance de salvar efetivamente as florestas tropicais e aqueles que lá vivem é encontrar uma forma para que elas possam coexistir com a lógica do mundo moderno, inclusive no Brasil. Ambientalistas do mundo inteiro reconhecem, no íntimo, que nesses países de enormes desigualdades sociais, onde estão as últimas florestas tropicais intactas, a pressão sobre os recursos naturais é grande e as formas de fiscalização das eventuais leis de proteção são muito frágeis”.

Nesse primeiro parágrafo do texto, o único termo sublinhado que tem o referente anterior corretamente identificado é:

- (A) aqueles = que lá vivem.
- (B) que = aqueles.
- (C) elas = florestas tropicais e aqueles que lá vivem.
- (D) nesses países = mundo inteiro.
- (E) onde = Brasil.

08

Assinale a alternativa que mostra uma modificação **inadequada** de um segmento por um outro equivalente semanticamente.

- (A) Lógica do mundo moderno = lógica mundial moderna.
- (B) Ambientalistas do mundo inteiro = ambientalistas de todo o mundo.
- (C) Leis de proteção = leis protecionistas.
- (D) Uso dos recursos naturais = uso natural dos recursos.
- (E) Para a indústria de cosméticos e farmacêutica = para a indústria farmacêutica e de cosméticos.

09

O segmento do texto que mostra um **erro** ortográfico é:

- (A) “Provavelmente a única chance de salvar efetivamente as florestas tropicais e aqueles que lá vivem é encontrar uma forma para que elas possam coexistir com a lógica do mundo moderno, inclusive no Brasil”.
- (B) “É também neste caminho que várias experiências e inúmeras pesquisas estão fervilhando no momento, pelo Brasil e pelo mundo afora”.
- (C) “Aqui, vemos o trabalho nas reservas extrativistas, o fornecimento de matéria-prima para a indústria de cosméticos e farmacêutica, a exploração de madeira certificada”.
- (D) “O conceito de uso sustentado dos recursos naturais vai muito além das florestas, para hoje estar incorporado a todas as atividades da humanidade”.
- (E) “O reciclar, reutilizar, substituir e otimizar deixaram de ser “moda” para se tornarem obrigação de quem deseja garantir a qualidade das futuras gerações”.

10

Assinale a alternativa que **não** mostra ideia ou forma aumentativa / superlativa.

- (A) “Provavelmente a única chance de salvar efetivamente as florestas tropicais...”.
- (B) “...nesses países de enormes desigualdades sociais...”.
- (C) “a pressão sobre os recursos naturais é grande”.
- (D) “as formas de fiscalização das eventuais leis de proteção são muito frágeis”.
- (E) “o uso sustentado das florestas ganhou grande força na consciência...”.

Bacteriologia**11**

As atividades desenvolvidas em um laboratório de microbiologia expõem o trabalhador a uma variedade de riscos que estão associados aos materiais empregados e aos métodos utilizados. Visando minimizar ou eliminar os riscos, é essencial o estabelecimento de um programa de biossegurança para o laboratório. O laboratório, dependendo das atividades que desenvolve pode apresentar, em maior ou menor grau, quatro categorias de riscos. No processo de avaliação de risco para o trabalho com agentes biológicos, uma série de critérios deve ser considerada, sobre o tema, assinale a alternativa correta.

- (A) A virulência do agente biológico para o homem e animais é um dos critérios de maior importância sendo que uma das formas de mensurá-la é determinando a taxa de fatalidade do agravo causado pelo agente patogênico, que pode vir a causar a morte ou incapacidade em curto prazo. Segundo esse critério, tuberculose, encefalites virais e infecções por *Staphylococcus* spp. são consideradas de alto risco.
- (B) O conhecimento do modo de transmissão do agente biológico manipulado é de fundamental importância para aplicação de medidas de controle, mesmo sabendo que, independente do modo de transmissão, a forma de controle será idêntica para qualquer agente biológico.
- (C) A dose infectante do agente biológico é um critério de baixa relevância, pois não há uma relação direta entre esse critério e o risco do agente patogênico a ser manipulado.
- (D) Em relação à origem do agente biológico potencialmente patogênico, este dado deve estar relacionado não apenas com a origem do hospedeiro do agente biológico como também com a localização geográfica do mesmo.
- (E) O tipo de ensaio utilizado no laboratório é um critério a ser considerado, onde ensaios como amplificação, sonificação e centrifugação apresentam uma relação direta com a redução do risco.

12

Com relação à estrutura da célula procariótica, analise as afirmativas a seguir.

- I. O peptidoglicano é um polímero cuja unidade básica é constituída por um dissacarídeo ligado a um polipeptídeo.
- II. A membrana externa das bactérias Gram-negativas é uma bicamada simétrica composta por, pelo menos, dois tipos de lipídios.
- III. O core polissacarídico conecta as regiões A, (hidrofílica), e O, (hidrofóbica), do lipopolissacarídeo.

Assinale:

- (A) se todas as afirmativas estiverem corretas.
- (B) se somente a afirmativa I estiver correta.
- (C) se somente as afirmativas I e II estiverem corretas.
- (D) se somente as afirmativas I e III estiverem corretas.
- (E) se somente as afirmativas II e III estiverem corretas.

13

Os laboratórios de microbiologia podem ser divididos em quatro categorias de acordo com os níveis de biossegurança. A classificação em cada um desses quatro diferentes níveis consiste da combinação de práticas e técnicas de laboratório, equipamentos de segurança e instalação do laboratório. Cada combinação é adequada especificamente para as operações realizadas, vias de transmissões documentadas ou suspeitas de agentes infecciosos e funcionamento ou atividade do laboratório. Sobre as principais características dos quatro níveis de biossegurança, analise as afirmativas abaixo.

- I. Nos laboratório de nível 1 de biossegurança, as práticas, os equipamentos de segurança e o projeto das instalações são apropriados para o treinamento educacional secundário ou para treinamento de técnicos e de professores de técnicas laboratoriais. Em laboratório de nível 1, trabalha-se com cepas de microrganismos viáveis e conhecidos por não causarem doença em homens adultos e sadios, como o *Bacillus subtilis*.
- II. Nos laboratórios de nível 2 de biossegurança, as práticas, os equipamentos, a planta e a construção das instalações são aplicáveis aos laboratórios clínicos, de diagnóstico, laboratórios escola e outros laboratórios que trabalham com agentes biológicos que provocam infecções no homem e animais, cujo potencial de propagação na comunidade e disseminação no ambiente é limitado. Exemplos de microrganismos que podem ser manipulados em laboratório de nível 2 de biossegurança incluem *Enterococcus* spp., *Brucella* spp. e *Escherichia coli* O157:H7.
- III. Nos laboratórios de nível 3 de biossegurança, as práticas, o equipamento de segurança, o planejamento e a construção das dependências são aplicáveis para laboratórios clínicos, de diagnóstico, laboratório escola, de pesquisa ou de produções. Enquanto os laboratórios de nível 4 de biossegurança são aplicáveis para trabalhos que envolva agentes exóticos que representam alto risco. *Clostridium botulinum* e *Mycobacterium tuberculosis* são exemplos de microrganismos manipulados em laboratórios de nível 3, enquanto que *Bacillus anthracis* é um exemplo de microrganismo manipulado em laboratório de nível 4 de biossegurança.

Assinale:

- (A) se somente a afirmativa I estiver correta.
- (B) se somente a afirmativa II estiver correta.
- (C) se somente as afirmativas I e II estiverem corretas.
- (D) se somente as afirmativas I e III estiverem corretas.
- (E) se todas as afirmativas estiverem corretas.

14

As subunidades e coenzimas para biossíntese podem se originar de um número relativamente pequeno de precursores, denominados metabólitos focais. São exemplos de metabólitos focais, **exceto**:

- (A) α -cetoglutarato.
- (B) Glicose-6-fosfato.
- (C) Oxaloacetato.
- (D) 2-fosfoglicerato.
- (E) Fosfoenolpiruvato.

15

As cabines de segurança biológica (CSB) estão entre os mais comuns e eficazes dispositivos de contenção primária utilizados em laboratório que trabalham com agentes infecciosos. Existem três tipos gerais de CSB, designadas de classe I, classe II e classe III e que possuem características e aplicações distintas. Sobre as CSB utilizadas em laboratório de microbiologia, assinale a afirmativa correta.

- (A) As CSB de classe II são divididas em dois tipos, A e B. As cabines do tipo A são adequadas para pesquisas microbiológicas tanto na ausência quanto na presença de substâncias químicas voláteis ou tóxicas e de produtos radioativos.
- (B) As CSB de classe II do tipo B são subdivididas em B1, B2 e B3, onde a principal diferença entre as cabines B1 e B2 é o fato de que na primeira não há recirculação de ar.
- (C) Nas CSB de classe II tipo B3, pode-se trabalhar tanto com microrganismos manipulados em laboratórios de níveis, 2, 3 e 4 de biossegurança, com produtos químicos ou radioativos.
- (D) A CSB de classe III é uma cabine totalmente fechada e ventilada, à prova de escape de ar e que oferece o mais alto grau de proteção ao pessoal e ao ambiente. Todas as operações na área e no trabalho da cabine deverão ser realizadas com macacão individual, não sendo recomendado o uso de braços com luvas de borracha.
- (E) A CSB de classe I é uma cabine ventilada de pressão negativa operada por uma abertura frontal e onde todo o ar da cabine é liberado, através de um filtro HEPA, para dentro ou para fora do laboratório. Para esse tipo de cabine, pode-se trabalhar com microrganismos manipulados em laboratórios de níveis 2 e 3 de biossegurança.

16

As vias Hexose-Monofosfato e Hexose-Difosfato são vias de oxidação da glicose referidas, respectivamente, como:

- (A) Pentose-fosfato e Embden-Meyerhof-Parnas.
- (B) Entner-Doudoroff e Embden-Meyerhof-Parnas.
- (C) Embden-Meyerhof-Parnas e Pentose-Fosfato.
- (D) Entner-Doudoroff e Pentose-fosfato.
- (E) Pentose-fosfato e Entner-Doudoroff.

17

A análise das seqüências integrais de cromossomos bacterianos permitiu a constatação de que a maioria, se não todos, são estruturas em mosaico, compreendendo genes conservados além de múltiplas seqüências inseridas de diferentes origens. São exemplos dessas seqüências, **exceto**:

- (A) seqüências de inserção.
- (B) genomas de bacteriófagos.
- (C) plasmídios.
- (D) elementos conjugativos integrativos.
- (E) ilhas genômicas.

18

Dentre os mecanismos conhecidos de transferência de genes entre bactérias estão os listados a seguir, **exceto**:

- (A) transformação.
- (B) conjugação.
- (C) transdução.
- (D) transposição.
- (E) fusão de protoplasto.

19

Boas Práticas de Laboratório é um sistema da qualidade relativo ao processo organizacional e às condições sob as quais estudos referentes à saúde e ao ambiente são planejados, realizados, monitorados, registrados, relatados e arquivados. Princípios das Boas Práticas de Laboratório são aplicáveis em estudos que dizem respeito a segurança de produtos relacionados à saúde humana, vegetal, animal e ao ambiente. Para correta implantação do sistema de qualidade é necessário a definição de uma unidade operacional, ou seja, o conjunto de instalações, de equipamentos e de pessoal para conduzir o estudo. Em relação à unidade operacional, analise as afirmativas abaixo.

- I. Em estudos que envolvem várias unidades operacionais, a unidade principal é onde trabalha o diretor do estudo. Este é o principal responsável pela condução do estudo em toda a sua extensão, podendo delegar parte dessa responsabilidade a um pesquisador principal.
- II. A unidade operacional sempre apresenta uma unidade de Garantia da Qualidade, a responsável pela garantia da aplicação dos princípios das Boas Práticas de Laboratório nos estudos conduzidos. Os principais instrumentos utilizados por essa unidade são: auditorias de estudo, inspeção de laboratório e auditoria de processo.
- III. As auditorias de estudo são conduzidas para monitorar o estudo, enfatizando as etapas críticas do mesmo, enquanto as auditorias de processo são conduzidas para monitorar procedimentos ou processos de natureza repetitiva, nos quais as auditorias de estudo tornam-se inviáveis ou ineficientes. Essa última aplica-se apenas aos estudos de longa duração.

Assinale:

- (A) se somente a afirmativa I estiver correta.
- (B) se somente a afirmativa II estiver correta.
- (C) se somente as afirmativas I e II estiverem corretas.
- (D) se somente as afirmativas I e III estiverem corretas.
- (E) se todas as afirmativas estiverem corretas.

20

Com relação à estrutura, às funções e às características atribuídas ao LPS (lipopolissacarídeo) de bactérias Gram-negativas, analise as afirmativas abaixo.

- I. A perda do antígeno O diminui a susceptibilidade à morte mediada pelo sistema complemento.
- II. Atua como um mitógeno, estimulando a diferenciação e a multiplicação policlonal de células B, além da secreção de imunoglobulinas, como IgM e IgG.
- III. Dois açúcares estão normalmente presentes no core polissacarídico, uma heptose e o ácido cetodeoxioctanóico (KDO).

Assinale:

- (A) se todas as afirmativas estiverem corretas.
- (B) se somente a afirmativa I estiver correta.
- (C) se somente as afirmativas I e II estiverem corretas.
- (D) se somente as afirmativas II e III estiverem corretas.
- (E) se somente a afirmativa III estiver correta.

21

Segundo as Boas Práticas de Laboratório, toda unidade operacional, deve ter uma unidade de Garantia da Qualidade, diretamente ligada ao gerente. Tal unidade assegura que os estudos serão realizados de acordo com os princípios das Boas Práticas de Laboratório. Sobre a Unidade de Garantia da Qualidade, assinale a alternativa correta.

- (A) O pessoal da unidade de Garantia da Qualidade deve ter treinamento, especialização e experiência necessários para desempenhar suas funções e as pessoas pertencentes a essa unidade não devem estar envolvidas na condução dos estudos.
- (B) Em estudos de campo, é necessário mais de uma pessoa para desempenhar a função da unidade de Garantia da Qualidade, que devem ser necessariamente de uma mesma unidade operacional.
- (C) Pela alta frequência e pela natureza rotineira de vários estudos de curta duração, cada estudo é auditado individualmente pela unidade de Garantia da Qualidade durante sua fase experimental.
- (D) A unidade de Garantia da Qualidade deve assegurar, por meio de inspeções periódicas na unidade operacional ou de auditoria nos estudos em curso, que o plano de estudo e os procedimentos operacionais padrão (POP) estejam sendo seguidos. No entanto, registros desse procedimento não precisam ser arquivados.
- (E) Uma importante responsabilidade da unidade de Garantia da Qualidade é assegurar que o plano de estudo e os procedimentos operacionais padrão (POP) estejam disponíveis para o pessoal da Garantia da Qualidade logo que se inicie o estudo.

22

Os sistemas de secreção conhecidos em bactérias com potencial para introduzir proteínas efetoras diretamente no citoplasma das células hospedeiras pertencem aos tipos:

- (A) III, IV e VI.
- (B) II e IV.
- (C) I e III.
- (D) III e V.
- (E) II, V e VII.

23

Com relação aos mecanismos de ação das toxinas do tipo A-B, analise as afirmativas abaixo.

- I. A toxina diftérica catalisa a transferência de ADP-ribose do NAD para o fator de alongação 2 (EF-2), inibindo a síntese protéica.
- II. A toxina Pertussis possui cinco subunidades B, das quais a subunidade S2 está envolvida na ligação a um receptor glicolipídico em células respiratórias ciliadas e a subunidade S3 se liga a glicolipídios em fagócitos.
- III. A toxina colérica se liga ao receptor gangliosídeo GM₁ na superfície dos enterócitos por meio das subunidades B e o fragmento A₁, ativado pela redução da ponte dissulfeto da subunidade A, promove a ADP-ribosilação da proteína G_s.

Assinale:

- (A) se todas as afirmativas estiverem corretas.
- (B) se somente a afirmativa I estiver correta.
- (C) se somente as afirmativas I e II estiverem corretas.
- (D) se somente as afirmativas I e III estiverem corretas.
- (E) se somente as afirmativas II e III estiverem corretas.

24

A preservação a curto e a longo prazo de microrganismos para estudos futuros é uma tradição na microbiologia. As coleções de cultura de microrganismos são recursos valiosos para estudos sobre a diversidade e a evolução microbianas, investigações epidemiológicas, além de propostas educacionais. Existem vários métodos de preservação de microrganismos e um estoque efetivo é aquele capaz de manter um organismo viável, livre de contaminação e sem alterações fenotípicas ou genotípicas. Sobre os métodos de preservação de bactérias em microbiologia, assinale a alternativa correta.

- (A) No método de preservação com óleo mineral, um inóculo do microrganismo deve ser semeado em ágar inclinado e, após o crescimento, uma camada de 1 a 2 cm de óleo mineral deve ser adicionada. Diferentemente do método de subcultivo em meios frescos, o método com óleo mineral dispensa a realização de repique contínuo.
- (B) Microrganismos podem sofrer danos durante o congelamento, a estocagem e o descongelamento. Dessa forma, agentes crioprotetores são freqüentemente adicionados nas suspensões de cultura. Dois importantes agentes crioprotetores são o glicerol, adicionado na concentração de 10% e o DMSO, adicionado na concentração de 50%.
- (C) Dentre os métodos de preservação, o subcultivo em meios frescos e o método de preservação com óleo mineral preservam bactérias por curtos períodos, enquanto o método de secagem, o congelamento a – 20°C e o congelamento a – 70°C preservam por períodos mais longos.
- (D) Embora muitos microrganismos não sobrevivam à secagem, exemplos de microrganismos que podem ser secos e estocados por períodos prolongados são as bactérias formadoras de esporos.
- (E) O método mais simples e muito usado em bactérias de manutenção de microrganismos viáveis a curto prazo, é o subcultivo em meios frescos. É um método simples que preserva as características fenotípicas da cepa por mais de uma semana.

25

Um método de diagnóstico simples e rápido para identificação preliminar de bactérias é a microscopia. Sobre os métodos de microscopia para diagnósticos em bacteriologia, assinale a afirmativa que melhor correlaciona o método com o patógeno.

- (A) Método de coloração de Gram e *Treponema pallidum*.
- (B) Método de coloração de Kinyoun e *Leptospira interrogans*.
- (C) Método de coloração de Auramina-Rodamina e *Bacillus* spp.
- (D) Método de coloração de Gimenez e *Legionella pneumophila*.
- (E) Método de coloração de Wirtz-Conklin e *Corynebacterium diphtheriae*.

26

O agrupamento de genes que codificam proteínas com funções relacionadas constitui-se em uma unidade transcricional denominada:

- (A) Integron. (B) Replicon.
- (C) Transposon. (D) Regulon.
- (E) Operon.

27

Muitos testes microbiológicos requerem o isolamento de microrganismos viáveis. Isto significa que o espécime apropriado deve ser coletado, levado rapidamente ao laboratório em meio de transporte adequado e semeado em meios de cultura de forma a permitir o crescimento. Sobre os principais meios de isolamento bacteriano, assinale a alternativa correta.

- (A) O ágar MacConkey contém lactose e é um meio diferencial para seleção e isolamento de membros da família *Enterobacteriaceae* e bacilos Gram negativos entéricos relacionados. Bactérias fermentadoras desse carboidrato formam colônias negras.
- (B) A agar Hektoen entérico contém sais biliares que funcionam como inibidores de bactérias Gram positivas, o tornando uma excelente opção para o isolamento de patógenos entéricos em amostras de fezes.
- (C) O meio de Thayer-Martin modificado contém uma mistura de agentes antimicrobianos que tem por finalidade inibir o crescimento de bactérias Gram positivas e cocos Gram negativos. Esse meio é amplamente empregado no isolamento primário de patógenos causadores de infecções do sistema nervoso central.
- (D) O ágar xilose-lisina-desoxicolato (XLD) foi elaborado para isolamento primário de *Escherichia coli* e *Yersinia enterocolitica* em amostras de fezes.
- (E) O ágar sangue cistina-telurito contém telurito de potássio como agente inibidor e é utilizado para isolamento primário de *Neisseria gonorrhoeae*.

28

Em um laboratório de Bacteriologia, o processamento de espécimes clínicos inclui detecção de bactérias por coloração e cultura, por ensaios imunológicos para detecção de antígenos e pelo uso de técnicas moleculares para identificação de seqüências específicas dos ácidos nucléicos. A coleta e o transporte do espécime clínico devem seguir alguns critérios, visto que estão diretamente relacionados com o sucesso no isolamento e na identificação do patógeno. Sobre a coleta e o transporte de tais espécimes, analise as afirmativas abaixo.

- I. Amostras de líquido cefalorraquidiano, utilizadas como espécime clínico de escolha para identificação de agentes causadores de infecções de sistema nervoso central, devem ser coletadas em tubos secos estéreis e encaminhadas diretamente ao laboratório. Em alguns casos, pode-se manter a amostra sob refrigeração por, no máximo 30 minutos, antes do processamento de isolamento laboratorial.
- II. Para diagnóstico laboratorial das infecções intestinais, as fezes podem ser mantidas em temperatura ambiente por até 24 horas, desde que tenham sido coletadas em meios de transporte, tais como o meio de Cary-Blair.
- III. Amostras de hemocultura devem ser coletadas diretamente em garrafas específicas para cultura de sangue e podem ser mantidas por até 2 horas, sob refrigeração, antes do processamento inicial de isolamento do agente etiológico.

Assinale:

- (A) se apenas a afirmativa I estiver correta.
- (B) se apenas a afirmativa II estiver correta.
- (C) se apenas a afirmativa III estiver correta.
- (D) se apenas as alternativas II e III estiverem corretas.
- (E) se todas as afirmativas estiverem corretas.

29

O laboratório de bacteriologia desempenha um importante papel no diagnóstico e no controle das doenças infecciosas. Os métodos diagnósticos em bacteriologia são variados, incluindo desde os microscópicos até a microbiologia molecular, passando por métodos fenotípicos e sorológicos. Sobre os métodos de diagnóstico em bacteriologia, analise as afirmativas abaixo.

- I. Dentre os métodos de microscopia após coloração com reagentes específicos, destaca-se o método de coloração de Gram, utilizado para a maioria das bactérias, e o método de coloração de Ziehl-Neelsen, utilizado especialmente no diagnóstico das infecções por *Mycobacterium* spp., *Nocardia* spp., *Rhodococcus* spp. e *Mycoplasma* spp..
- II. Nos laboratórios de microbiologia, a cultura de microrganismos continua sendo o principal método diagnóstico. No entanto, muitos microrganismos não crescem nos meios de cultura *in vitro* e, dessa forma, os métodos sorológicos se tornaram uma boa alternativa diagnóstica. Um importante exemplo de diagnóstico sorológico para infecções bacterianas é a técnica de imunofluorescência utilizada para diagnóstico de infecções por *Chlamydia trachomatis*, conhecida como FTA-Abs.
- III. Com os avanços da biologia molecular, muitas técnicas genotípicas são hoje utilizadas como ferramentas diagnósticas em bacteriologia. Enquanto a técnica de reação em cadeia da polimerase é amplamente empregada para detecção de microrganismos não cultiváveis, as técnicas de eletroforese em gel de campo pulsado e a análise do polimorfismo do comprimento do fragmento de restrição são mais utilizadas para a tipagem de cepas bacterianas.

Assinale:

- (A) se apenas a afirmativa I estiver correta.
- (B) se apenas a afirmativa II estiver correta.
- (C) se apenas a afirmativa III estiver correta.
- (D) se apenas as alternativas II e III estiverem corretas.
- (E) se todas as afirmativas estiverem corretas.

30

Durante os estágios iniciais de um processo infeccioso, as bactérias precisam expressar adesinas permitindo a ligação às células do hospedeiro. Após essas etapas, a expressão de exotoxinas e fatores de evasão precisa ser regulada positivamente, com concomitante repressão dos fatores de colonização. A regulação da expressão de fatores de virulência pode ser controlada por diferentes mecanismos, por exemplo, sistemas de transdução de sinal de dois componentes. São exemplos desses sistemas, **exceto**:

- (A) Agr.
- (B) BvgAS.
- (C) DtxR.
- (D) Aer.
- (E) ComDE.

Micobactérias**31**

O gênero bacteriano *Mycobacterium*, descrito em 1986 por Lehmann & Neumann, consiste em formas cocobacilares ou ramificadas, álcool-ácido resistentes, Gram-positivas fracas, imóveis. A maior parte das 148 espécies e 11 subespécies descritas para o gênero (Euzéby, 2010) compreende o grupo das Micobactérias Não Tuberculosas. O grupo foi inicialmente dividido em 1954 por Timpe & Runyon em categorias taxonômicas de forma a auxiliar na identificação das mesmas. Apesar de tais categorias não serem utilizadas como unidades formais taxonômicas, estas são úteis na classificação e na identificação preliminar de cepas isoladas. Com base nessa categorização taxonômica, assinale a alternativa **incorreta**.

- (A) Dentre as escotocromogênicas estão classificadas as espécies *M. goodii*, raramente patogênica, e *M. szulgai*, patógeno oportunista em diferentes órgãos em seres humanos, estando a associada frequentemente a quadros de doença granulomatosa pulmonar indistinguível da tuberculose pulmonar ativa.
- (B) A divisão taxonômica proposta por Timpe & Runyon (1954) inclui características fenotípicas tais como velocidade de crescimento e o desenvolvimento de pigmento com variação da exposição à luz. O grupo IV dessa divisão abrange micobactérias de crescimento significativo entre três a cinco dias à temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Exemplos incluem as espécies *M. mucogenicum*, *M. houstonense* e *M. porcinum*.
- (C) O grupo III inclui micobactérias com coloração amarelo-opalescente, também ditas não pigmentadas, e, mesmo diante da exposição à luz, não exibem aumento na intensidade da coloração. Representantes incluem as espécies *M. gastri*, *M. terrae* e *M. triviale*.
- (D) As espécies *M. kansasii*, *M. marinum* e *M. ulcerans*, patógenos oportunistas em seres humanos, são fotocromogênicas, com pigmentação por caroteno quando em crescimento ativo acima de sete dias a temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ e exposição à luz, sendo equivalentes ao grupo I de Timpe & Runyon (1954).
- (E) *M. leprae* não se enquadra nas categorias de Timpe & Runyon (1954), devido às propriedades fenotípicas dessa espécie, exclusivas no gênero.

32

As micobactérias apresentam diferentes compostos na parede celular, incluindo proteínas, lipoarabinomanos, ácidos micólicos e outros. Tais compostos estão distribuídos em diferentes camadas e compõem um mosaico complexo e com alto conteúdo de lipídeos complexos. Dentre as estruturas abaixo, indique a única que **não** faz parte da composição da parede celular micobacteriana.

Assinale:

- (A) se apenas ácido *N*-acetil-glicosamina não fizer parte.
- (B) se apenas glicopeptídeolipídeos não fizer parte.
- (C) se apenas ácido *N*-acetil-murâmico não fizer parte.
- (D) se apenas porina não fizer parte.
- (E) se apenas lipomanana não fizer parte.

33

O arranjo taxonômico mais recente, e aceito por muitos autores, das micobactérias segue as propostas iniciais do *International Working Group on Mycobacterial Taxonomy* (IWGMT). As propostas incluíam estudos polifásicos com diferentes propriedades biológicas das espécies tais como caracterizações quimiotaxonômica e filogenética. Sobre os bacilos micobacterianos de crescimento lento potencialmente patogênicos, de uma das categorias sugeridas pelo IWGMT, analise as afirmativas a seguir.

- I. O complexo *M. avium-intracellulare* inclui *M. avium* subsp. *avium*, *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (Map), *M. avium* subsp. *silvaticum*, e *M. intracellulare*, que constituem o grupo III de Timpe & Runyon (1954) e são distribuídas em “serovares”. Tais espécies (ou subespécies) são consideradas patógenos potenciais em seres humanos, algumas patógenos obrigatórios como *M. avium* subsp. *silvaticum*.
- II. A espécie *M. kansasii* consiste em um dos três principais patógenos micobacterianos de crescimento lento frequentemente isolados de pacientes imunocompetentes ou imunocomprometidos com doença pulmonar no mundo. A espécie pode ser subdividida em cinco genótipos baseados em técnicas moleculares de análise de fragmentos após restrição enzimática e hibridização com sondas IS1652. Estudos filogenéticos indicam maior homologia (similaridade) com dessa espécie com *M. gastri*.
- III. Dentre bacilos micobacterianos não pertencentes ao complexo *M. tuberculosis* e não patogênicos, estão *M. genavense*, *M. haemophilum*, *M. malmoense*, *M. marinum* e *M. simiae*.

Assinale:

- (A) se somente a afirmativa I estiver correta.
- (B) se somente as afirmativas II e III estiverem corretas.
- (C) se somente as afirmativas I e II estiverem corretas.
- (D) se somente a afirmativa III estiver correta.
- (E) se todas as afirmativas estiverem corretas.

34

A técnica de citometria de fluxo vem sendo aplicada na avaliação da susceptibilidade a antimicrobianos em micobactérias com resultados mais rápidos do que métodos tradicionais. Sobre o tema, analise as afirmativas a seguir.

- I. Determinação da concentração mínima inibitória de antimicrobianos para cepas clínicas de *Mycobacterium tuberculosis* em até 24h.
- II. Detecção da susceptibilidade ou da resistência a antimicrobianos de cepas clínicas *Mycobacterium tuberculosis* sem a multiplicação do microrganismo.
- III. Determinação da concentração mínima inibitória de antimicrobianos para patógenos localizadas no interior de células fagocíticas.

Assinale:

- (A) se somente a afirmativa I estiver correta.
- (B) se somente as afirmativas I e II estiverem corretas.
- (C) se somente a afirmativa II estiver correta.
- (D) se somente a afirmativa III estiver correta.
- (E) se todas as afirmativas estiverem corretas.

35

De maneira semelhante ao ocorrido recentemente com outros grupos bacterianos, o número de espécies novas descritas para as micobactérias de crescimento rápido (MCR) tem aumentado significativamente nas últimas décadas, dificultando uma classificação confiável em laboratórios de rotina. Em alguns casos, as novas espécies foram propostas com base em um único isolamento ou em um número pequeno de cepas isoladas. Sobre os aspectos taxonômicos recentes de MCRs, analise as afirmativas a seguir.

- I. Os estudos taxonômicos envolvendo a filogenia entre membros de MCR têm sido baseados na análise de sequências dos genes 16S rRNA, 23S rRNA, *hsp65* e aquele codificante para RNA polimerase.
- II. A técnica de hibridização DNA-DNA consiste na metodologia de maior acurácia na determinação de espécies de MCRs, apesar de ser laboriosa e atualmente realizada em centros de referência internacionais, justificando a busca de alternativas por diferentes laboratórios de pesquisa.
- III. Os complexos taxonômicos descritos para MCRs consistem em (i) Grupo *M. fortuitum*, composto por *M. fortuitum*, *M. peregrinum*, *M. mucogenicum* e *M. senegalense*; (ii) Grupo *M. chelonae-M. abscessus*, composto pelas espécies *M. chelonae*, *M. abscessus*, *M. bolletii*, *M. massiliense* e *M. immunogenum*; e (iii) Grupo *M. smegmatis*, constituído por *M. smegmatis*, *M. goodii* e *M. wolinskyi*.

Assinale:

- (A) se somente a afirmativa II estiver correta.
- (B) se somente as afirmativas II e III estiverem corretas.
- (C) se somente as afirmativas I e II estiverem corretas.
- (D) se somente a afirmativa I estiver correta.
- (E) se todas as afirmativas estiverem corretas.

36

O teste da catalase consiste em um dos métodos freqüentemente utilizados para a identificação de micobactérias. A enzima consiste em uma enzima solúvel intracelular capaz de degradar peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Dois testes são possíveis para a detecção da atividade de catalase em micobactérias. Considerando os princípios da técnica, analise as afirmativas a seguir.

- I. O teste semi-quantitativo da catalase classifica as micobactérias em dois grupos: produtores de catalase em baixos níveis e produtores de catalase em altos níveis, baseados na altura da coluna de bolhas de gás oxigênio formada após cinco minutos da adição do reagente em temperatura ambiente.
- II. A maioria das micobactérias produz catalase em quantidade detectável, exceto cepas de *M. tuberculosis*, resistente a isoniazida, e *M. bovis*.
- III. O complexo *M. tuberculosis* pode ser separado das demais micobactérias por apresentar catalase inativada pela temperatura acima de 68°C.

Assinale:

- (A) se somente a afirmativa I estiver correta.
- (B) se somente as afirmativas I e II estiverem corretas.
- (C) se somente a afirmativa II estiver correta.
- (D) se somente a afirmativa III estiverem corretas.
- (E) se todas as afirmativas estiverem corretas.

37

Vários sistemas foram descritos para identificação genotípica de cepas micobacterianas isoladas de espécimes clínicos, incluindo as diferentes espécies do complexo *M. tuberculosis*. Sobre os princípios e as aplicações dos sistemas para a identificação de micobactérias, analise as afirmativas a seguir.

- I. As técnicas baseadas apenas em reação de polimerização em cadeia com iniciadores específicos para as deleções genômicas RD de *M. tuberculosis* como RD1, RD4, RD9, RD12, discriminam as espécies *M. tuberculosis* e *M. bovis* (incluindo a espécie *M. bovis* BCG) bem como outras espécies do complexo.
- II. Espécies do complexo *M. tuberculosis* podem ser diferenciadas pelo teste *AccuProbe* (GenProbe Inc., San Diego, California, EUA), que consiste em sondas marcadas com éster de acridina. Esse mesmo sistema pode também ser aplicado na identificação de cepas do complexo *M. avium* e *M. kansasii*.
- III. Os sistemas *INNO-LiPA Mycobacteria version 2* (Innogenetics, Ghent, Bélgica) *GenoType Mycobacteria* (Hain Lifescience, Nehren, Alemanha) consistem em hibridização reversa de produtos de reação de polimerização em cadeia biotinilados aos seus fragmentos complementares presentes em "tiras" de membrana. Ambos permitem a identificação molecular de acima de 10 espécies de micobactérias. Uma desvantagem do sistema é a impossibilidade de uso em cepas cultivadas em meios líquidos.

Assinale:

- (A) se somente a afirmativa I estiver correta.
- (B) se somente as afirmativas II e III estiverem corretas.
- (C) se somente as afirmativas I e III estiverem corretas.
- (D) se somente a afirmativa III estiver correta.
- (E) se todas as afirmativas estiverem corretas.

38

Cepas de micobactérias foram isoladas a partir de dois escarros espontâneos, obtidos em dias consecutivos, de paciente sintomático respiratório, com histórico de tuberculose pulmonar anterior. As cepas foram semeadas em meio Löwestein-Jensen contendo piruvato. Posteriormente, após confirmação da pureza e coloração de Ziehl-Neelsen, a partir do crescimento, testes fenotípicos convencionais foram realizados com resultados idênticos entre as cepas e descritos a seguir.

Crescimento ótimo a 25 e 35°C, teste de niacina negativo, produção de arilsulfatase após 3 e 15 dias e de urease, redução positiva de nitrato, produção de pigmentação, após exposição à luz, ausência de crescimento em ágar nutriente, em meio de Sauton contendo ácido pícrico, ou em meio contendo NaCl a 5%, ausência de produção de β -galactosidase, e redução negativa do telurito.

Sobre a espécie correspondente à descrição fenotípica acima, assinale a alternativa correta.

- (A) *Mycobacterium kansasii*
- (B) *Mycobacterium bovis*
- (C) *Mycobacterium avium*
- (D) *Mycobacterium abscessus*
- (E) *Mycobacterium marinum*

39

Em 1993, Telenti e colaboradores propuseram um método para identificação molecular rápida de micobactérias com a restrição por endonucleases de uma sequência parcial do gene *hsp65*, seguida da análise do polimorfismo dos fragmentos resultantes, denominada PRA-*hsp65*. Considerando conceitos e aspectos técnicos da metodologia citada, assinale a alternativa **incorreta**.

- (A) Dentre as vantagens da técnica PRA-*hsp65* estão: (i) a rapidez; (ii) a possibilidade de identificação da maioria das espécies de micobactérias incluindo cepas não identificáveis por métodos fenotípicos ou HPLC, com exceção daquelas pertencentes ao complexo *M. tuberculosis*; e (iii) possibilidade de implantação em laboratórios públicos em território nacional.
- (B) A técnica envolve a amplificação parcial de um fragmento de aproximadamente 439pb do gene codificante para a proteína de choque térmico de 65kDa a partir do DNA extraído das cepas isoladas. Para a reação de polimerização em cadeia são usados os iniciadores Tb11 e Tb12. O DNA amplificado é submetido a restrição pelas enzimas BstEII e HaeIII independentemente e eletroforese em gel de agarose em concentração igual ou acima de 3%. A análise do tamanho dos fragmentos está disponível na página <http://app.chuv.ch/prasite/index.html>.
- (C) O polimorfismo de outros genes conservados, de maneira similar ao gene *hsp65*, já foi proposto como variações da técnica para a identificação de micobactérias, como os genes *rpoB*, *dnaJ* e o espaçador 16S-23S rRNA.
- (D) A técnica PRA-*hsp65*, apesar de não comercializada, foi aprovada pela Food and Drug Administration (FDA) na última década, porém é recomendada validação efetiva *in-house*.
- (E) Dentre as desvantagens da metodologia PRA-*hsp65* estão: (i) a não inclusão de espécies recentemente descritas no banco de dados *on-line*; (ii) diferenciação dificultada de fragmentos de restrição com dimensões próximas após a eletroforese; (iii) subjetividade; e (iv) identificação ambígua de espécies que compartilham de fragmentos de restrição com as mesmas dimensões.

40

Devido ao crescimento lento de algumas micobactérias, metodologias moleculares rápidas com sequenciamento de genes consistem em procedimentos adequados de aplicação em laboratórios de referência e de rotina visando a identificação de micobactérias. Sobre a aplicabilidade da técnica para a identificação de micobactérias, analise as afirmativas a seguir.

- I. Os pares *M. kansasii* e *M. gastri*, *M. ulcerans* e *M. marinum*, *M. shimoidei* e *M. triviale*, e *M. abscessus* e *M. chelonae* não podem ser diferenciados por sequências do gene *rrs*.
- II. Em cepas cultivadas em meio sólido, a extração de DNA e a reação de polimerização em cadeia, para posterior sequenciamento gênico, apresentam resultados reprodutíveis e de precisão superior àqueles realizados a partir de cepas cultivadas em meio líquido.
- III. Para a identificação de espécies de micobactérias não tuberculosas de crescimento rápido, os alvos incluem os genes *dnaJ*, *hsp65*, *gyrB*, 16S rDNA, *secA1*, *sod* ou a sequência ITS 16S-23S.

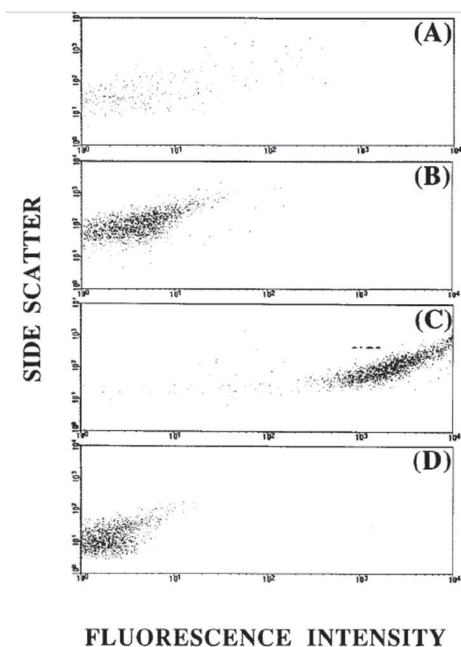
Assinale:

- (A) se somente a afirmativa I estiver correta.
- (B) se somente as afirmativas I e III estiverem corretas.
- (C) se somente a afirmativa II estiver correta.
- (D) se somente as afirmativas II e III estiverem corretas.
- (E) se todas as afirmativas estiverem corretas.

41

Bownds e colaboradores (1996) realizaram um dos estudos pioneiros sobre o uso da citometria de fluxo em testes de susceptibilidade a antimicrobianos. Tais pesquisadores usaram a cepa *Mycobacterium fortuitum* ATCC 14467 e o corante diacetato de fluorescéina (FDA) nos ensaios com antimicrobianos para determinar a concentração mínima inibitória. Na primeira parte do ensaio, os autores avaliaram o padrão de interação do corante com a cepa micobacteriana (viável ou inativada pelo calor) e com o meio de cultura, o qual poderia levar à interpretação errônea dos resultados quanto à fluorescência. Após a incubação, um volume de 10ml de FDA (10 mg/ml; Sigma) foi adicionado às soluções de meio de cultura com células cultivadas por sete dias a 37°C de *M. fortuitum* ou ao controle negativo de forma a obter uma concentração final de 100 ng/ml.

As suspensões foram incubadas a 37°C por 30 min e analisadas a 488nm com FACScam flow cytometer (Becton Dickinson Immunocytometry Systems) utilizando FAC Scan Lysis II software para a aquisição de dados e análise. Os gráficos resultantes estão na figura abaixo.



Legenda da Figura: Os números nos eixos y e x de cada painel são 10⁰, 10¹, 10², 10³ e 10⁴, respectivamente.

Usando seus conhecimentos de citometria de fluxo e micobacteriologia laboratorial, assinale a alternativa correta.

- (A) O Quadro C é referente ao crescimento de *Mycobacterium fortuitum* na presença de FDA e na ausência do meio de cultura 7H9.
- (B) O Quadro B é referente ao crescimento de *M. fortuitum* em meio de cultura 7H9 na ausência de FDA.
- (C) O Quadro A é referente ao meio de cultura 7H9 contendo FDA na presença de células de *M. fortuitum* mortas por calor.
- (D) O Quadro D é referente ao controle negativo do experimento, contendo meio de cultura 7H9 sem a adição de FDA ou *M. fortuitum*.
- (E) Os Quadro C e D consistem em células de *M. fortuitum*, cultivadas em 7H9 na ausência de FDA, e em células de *M. fortuitum*, cultivadas mortas pelo calor na presença de FDA, respectivamente.

42

As micobactérias consistem em bacilos álcool-ácidos resistentes (BAAR) por resistirem à descoloração com etanol acidificado pela metodologia tradicionalmente denominada baciloscopia.

Sobre os detalhes técnicos para a metodologia citada quando aplicada para espécime clínico do tipo escarro espontâneo e de forma direta, analise as seguintes afirmativas.

- I. O número mínimo de BAAR necessário para produzir um esfregaço com resultado positivo é estimado entre 100 a 1000 por mililitro (probabilidade de 50% de resultado positivo).
- II. A Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde recomenda, para o preparo do esfregaço, o uso de Bico de Bunsen ou Cabine de Segurança Biológica, de luvas e de outros Equipamentos de Proteção Individual, em área exclusiva apropriada, sem circulação de pessoas, sem correntes de ar, e com exaustor contendo renovação do ar (seis a 10 renovações por hora).
- III. A técnica mundialmente utilizada consiste na coloração do esfregaço pelo método de Ziehl-Neelsen sob metodologia padronizada e observação em microscopia de campo claro com uso de óleo mineral e aumento total de 100X.

Assinale:

- (A) se somente a afirmativa I estiver correta.
- (B) se somente as afirmativas I e II estiverem corretas.
- (C) se somente a afirmativa II estiver correta.
- (D) se somente as afirmativas I e III estiverem corretas.
- (E) se todas as afirmativas estiverem corretas.

43

A análise de ácidos micólicos é recomendada como um dos critérios mínimos para a descrição de novas espécies de micobactérias. Esses compostos consistem em ácidos graxos beta-hidroxi alfa substituídos com massa molecular elevada presentes na parede celular de micobactérias. Sobre a ordem correta dos procedimentos para extração de ácidos micólicos de micobactérias, assinale a alternativa correta.

- (A) I – Cultura *in vitro* em meio Löwestein-Jensen contendo glicerol a 5%, II – Suspensão bacteriana em salina 0.9%, III – Saponificação com benzeno e acidificação com ácido clorídrico, IV – Derivação a ésteres de *p*-bromofenacil, V – Clarificação.
- (B) I – Cultura *in vitro* em meio 7H10 contendo OADC, II – Suspensão bacteriana e autoclavação, III – Hidrólise com ácido sulfúrico e neutralização com hidróxido de sódio, IV – Derivação a éster de metila, V – Saponificação com clorofórmio.
- (C) I – Cultura *in vitro* em meio Sauton, II – Derivação a ésteres, III – Saponificação com éter de petróleo e acidificação com ácido sulfúrico, IV – Autoclavação, V – Hidrólise e Clarificação.
- (D) I – Cultura *in vitro* em meio Löwestein-Jensen, II – Saponificação com hidróxido de sódio - metanol, III – Autoclavação, IV – Adição de clorofórmio e agente acidificante, V – Derivação a ésteres de *p*-bromofenacil e Clarificação.
- (E) I – Cultura *in vitro* em meio 7H10 contendo OADC, II – Suspensão bacteriana e autoclavação, III – Hidrólise com ácido sulfúrico e neutralização com hidróxido de sódio, IV – Saponificação, V – Clarificação.

44

A baciloscopia é uma metodologia rápida, de baixo custo, útil no diagnóstico da tuberculose pulmonar. Em escarro espontâneo de pacientes sintomáticos respiratórios, o valor preditivo positivo para *M. tuberculosis* está geralmente acima de 90%.

No diagnóstico bacteriológico, as micobactérias são Gram-positivas fracas, sendo então submetidas a procedimentos que permitem a detecção de sua resistência a álcool-ácido. Essa propriedade, presente em outros gêneros bacterianos, pode levar ao diagnóstico impreciso, devendo ser confirmado por cultura e por identificação definitiva.

Considerando os princípios da baciloscopia, assinale a alternativa **incorreta**.

- (A) As propriedades exibidas por micobactérias na coloração de Ziehl-Neelsen são compartilhadas, em graus variáveis, com outros gêneros bacterianos que apresentam ácidos micólicos como constituintes da parede celular, tais como *Corynebacterium*, *Dietzia*, *Gordonia*, *Nocardia*, *Rhodococcus* e *Tsukamurella*.
- (B) A solução de coloração com fenol permite a penetração do corante pela parede celular micobacteriana. A alta temperatura utilizada na coloração de Ziehl-Neelsen, apesar de acelerar a incorporação do composto, não é fundamental para os procedimentos com fucsina.
- (C) As micobactérias são capazes de formar complexos estáveis com corantes aril-metano como fucsina e auramina O, propriedade utilizada como base da coloração álcool-ácido resistente. Por outro lado, as micobactérias de crescimento rápido podem não ser álcool-ácidos resistentes fortes pela metodologia clássica de Ziehl-Neelsen ou não corar com corante fluorocromo.
- (D) Gêneros *Nocardia*, *Rhodococcus*, assim como *Legionella micdadei*, cistos de espécies de *Cyclospora*, *Cryptosporidium*, *Isospora* e esporos de *Microsporidium* são exemplos de microrganismos que apresentam grau variável de álcool-ácido resistência.
- (E) Aspectos morfológicos do tipo corda em meios líquidos são exclusivos de *M. tuberculosis* e podem ser utilizados como critérios presuntivos de identificação da espécie no diagnóstico microbiológico.

45

Considerando os resultados em testes fenotípicos convencionais utilizados na identificação de micobactérias, indique a alternativa **incorreta**.

- (A) *Mycobacterium bovis* – Niacina-negativas (maioria), redução do nitrato-negativa, pirazinamidase-negativa, ausência de crescimento em presença de hidrazida do ácido tiofeno-2-carboxílico
- (B) *Mycobacterium kansasii* – Rápida hidrólise de Tween em 3 dias, redução do nitrato-positiva, catalase termoestável, pirazinamidase-positivo.
- (C) *Mycobacterium scrofulaceum* – Incapacidade de hidrolisar o Tween, redução do nitrato-negativa, catalase termoestável, uréase positiva.
- (D) *Mycobacterium malmoense* – Niacina-positivo, catalase termosensível, pirazinamidase negativa, nitrato-positivo, incapacidade de hidrolisar o Tween 80.
- (E) *Mycobacterium xenopi* – Crescimento ótimo a 42°C, niacina-negativo, redução do nitrato-negativo, arilsulfatase-positivo, pirazinamidase-positivo.

46

O paciente P.H.S., 45 anos, masculino, procedente de Duque de Caxias - RJ, apresenta perda ponderal há 6 meses, febre vespertina de baixa intensidade e tosse produtiva há 20 dias. Refere também "fraqueza e falta de fôlego". Há uma semana, apresenta tosse com expectoração moderada, acompanhada de sangue. É fumante e etilista moderados. Nega outras alterações. Foi atendido pelo serviço ambulatorial perto de sua residência sendo colhidas 2 amostras de escarro espontâneo para baciloscopia pelo método de Ziehl-Neelsen em dias consecutivos (dia 04.01.2010 no momento da consulta e no dia 05.01.2010 ao acordar).

Escarro 1 – Momento da consulta (Dia 04.01.2010)

Leitor:		Rubrica:							
Data:		Espécime:							
Lâmina no.:		Origem:							
Finalidade:									
0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
0	0	2	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	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	2	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
No. campos lidos:				----					
No. bacilos:				----					
Resultado / cruces:				----					

Escarro 2 – Manhã seguinte (05.01.2010)

Leitor:		Rubrica:							
Data:		Espécime:							
Lâmina no.:		Origem:							
Finalidade:									
1	1	0	0	0	0	2	1	1	1
2	0	0	0	4	4	1	2	5	0
0	1	2	2	2	1	0	0	0	0
0	1	0	6	0	0	2	1	0	0
0	1	1	0	0	0	0	0	1	0
0	2	1	0	0	0	0	0	0	1
1	1	0	0	0	1	2	2	2	0
0	0	1	2	0	1	2	0	0	0
1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
0	2	1	0	0	0	0	1	0	0
No. campos lidos:				----					
No. bacilos:				----					
Resultado / cruces:				----					

Com base nos achados ilustrados acima, sobre as interpretações finais dos exames baciloscópicos dos escarros do paciente, assinale a alternativa correta.

- (A) BAAR Positivo + / BAAR Positivo ++
- (B) 9 BAAR / BAAR Positivo +
- (C) BAAR Positivo + / BAAR Positivo +++
- (D) 9 BAAR / BAAR Positivo ++
- (E) 9 BAAR / BAAR Positivo +++

47

Segundo as recomendações da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, após a detecção de bacilos álcool-ácido resistentes em cultura, métodos fenotípicos convencionais devem ser empregados seguindo um algoritmo específico para identificação presuntiva de micobactérias. Sobre os procedimentos recomendados, assinale a alternativa correta.

- (A) Os testes fenotípicos recomendados compreendem inicialmente a avaliação da morfologia colonial, determinação da velocidade de crescimento, temperatura de crescimento e pigmentação fotorreativa. Os resultados obtidos nessa etapa permitem separar as micobactérias de crescimentos lento e rápido e a definição do conjunto de testes fenotípicos a serem empregados em etapa posterior.
- (B) Os testes fenotípicos recomendados compreendem inicialmente a diferenciação das cepas pertencentes ao complexo *M. tuberculosis* do grupo das micobactérias não tuberculosas por análises macroscópicas e microscópicas das culturas, teste de niacina, e crescimento em meio Löwestein-Jensen contendo ácido p-nitrobenzóico a 500ug/ml.
- (C) Os testes fenotípicos recomendados compreendem inicialmente a avaliação da morfologia colonial, determinação da velocidade de crescimento, temperatura de crescimento, pigmentação fotorreativa, teste da produção de arilsulfatase, teste semi-quantitativo da catalase, teste de produção de niacina, redução de nitrato e produção de pirazinamidase, de forma a acelerar a identificação de *M. tuberculosis*, que consiste na espécie de maior incidência em nosso meio.
- (D) Os testes fenotípicos recomendados compreendem inicialmente a determinação da velocidade de crescimento e pigmentação fotorreativa para posteriormente utilizar a combinação de testes específicos para os grupos de micobactérias de crescimento rápido ou lento.
- (E) A Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, pelo Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da Tuberculose e de outras Micobactérias, não apresenta recomendações ou determinações específicas para os métodos laboratoriais a serem utilizados em cada laboratório devido às variações quanto a recursos financeiros, insumos e equipamentos nos diversos laboratórios.

48

A baciloscopia é o exame básico para o diagnóstico da tuberculose, em particular das formas pulmonares. A técnica é utilizada para acompanhar a eficácia do tratamento pela redução bacilar e negatificação do escarro. O método consiste em um exame importante no programa de controle da tuberculose na busca e na detecção de casos bacilíferos. Sobre os fatores que influenciam a sensibilidade da baciloscopia da tuberculose, indique a alternativa **incorreta**.

- (A) Tipo de espécime clínico submetido a análise.
- (B) Espécie do complexo *Mycobacterium tuberculosis* associada a doença.
- (C) Tipo de técnica utilizada para coloração na baciloscopia.
- (D) Experiência do operador na leitura do método.
- (E) Características epidemiológicas da doença na população em estudo.

49

Considerando as recentes orientações indicadas pela Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde para a identificação convencional de micobactérias, analise as afirmativas abaixo.

- I. As principais espécies de micobactérias de crescimento rápido podem ser diferenciadas com os testes de produção de pigmentação, de crescimento em Löwestein-Jensen contendo ácido p-nitrobenzóico, de inibição do crescimento em meio de Sauton contendo ácido pícrico, em ágar nutriente, em meio com NaCl a 5%, produção de pirazinamidase, de produção de arilsulfatase (3 e 15 dias), hidrólise de Tween 80, de produção de β -galactosidase, de redução do telurito de potássio, de redução de nitrato, de produção de urease, de crescimento a 25°C e de crescimento a 45°C.
- II. O método PRA-*hsp65* é baseado em metodologia molecular e deve ser combinado com avaliação das cepas de micobactérias por testes fenotípicos tais como os de morfologias macro- e microscópica da cultura micobacteriana, de pigmentação fotorreativa, de inibição do crescimento em meio contendo ácido p-nitrobenzóico, de inibição do crescimento em meio contendo NaCl a 5%, de avaliação das temperaturas de crescimento, de crescimento em ágar nutriente, e teste de inibição do crescimento em meio de Sauton contendo ácido pícrico.
- III. As espécies do complexo *M. tuberculosis* exibem alta similaridade fenotípica e não são distinguíveis pelos testes fenotípicos disponíveis.

Assinale:

- (A) se somente a afirmativa I estiver correta.
- (B) se somente a afirmativa II estiver correta.
- (C) se todas as afirmativas estiverem corretas.
- (D) se somente as afirmativas I e III estiverem corretas.
- (E) se somente as afirmativas I e II estiverem corretas.

50

Os ácidos micólicos presentes na parede celular de micobactérias são dispostos de maneira a formar uma membrana externa com alta hidrofobicidade, garantindo a esses microrganismos a resistência a diversos antimicrobianos e a álcool-ácido resistência. Com base na estrutura molecular desses compostos, os ácidos micólicos apresentam uma variação entre:

- (A) 70 a 90 átomos de carbono.
- (B) 60 a 80 átomos de carbono.
- (C) 50 a 70 átomos de carbono.
- (D) 40 a 60 átomos de carbono.
- (E) 30 a 50 átomos de carbono.

51

A cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) dos ésteres de ácido micólicos demonstrou rapidez e acurácia na identificação de várias espécies de *Mycobacterium*. Sobre os princípios padronizados e o conhecimento prévio da técnica, analise as afirmativas a seguir.

- I. As espécies *M. tuberculosis* e *M. bovis* apresentam padrões indistinguíveis.
- II. No processo de análise por HPLC, os ésteres de ácidos micólicos são separados em coluna de fase reversa através de gradiente, e detectados por espectrometria UV.
- III. Um extrato preparado a partir de cultura com *M. fortuitum* ATCC 6841 é recomendado para utilização como controle positivo e serve como padrão de referência para nomeação de picos obtidos na análise por espectrometria.

Assinale:

- (A) se somente a afirmativa I estiver correta.
- (B) se somente as afirmativas I e III estiverem corretas.
- (C) se somente a afirmativa II estiver correta.
- (D) se somente as afirmativas I e II estiverem corretas.
- (E) se todas as afirmativas estiverem corretas.

52

Os fármacos usados no tratamento da tuberculose podem ser divididos em duas grandes categorias: (i) os de primeira linha, como isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida, e (ii) os de 2ª linha, como amicacina, ciprofloxacino ou ofloxacino, ciclosserina, capreomicina, etionamida e outros. Resultados excelentes podem ser obtidos em pacientes com tuberculose não resistente a fármacos com tratamento de seis meses de duração. Sobre os fármacos de primeira linha no tratamento da tuberculose, analise as afirmativas a seguir.

- I. A pirazinamida exibe atividade bactericida *in vitro* apenas na presença de pH levemente ácido, propriedade importante para ação intracelular, atuando principalmente em células micobacterianas em replicação, sendo então utilizada nos dois primeiros meses de tratamento.
- II. A rifampicina consiste em fármaco derivado semi-sintético do grupo das rifamicinas, que inclui a rifabutina e a rifapentina. Estes são antibióticos macrocíclicos complexos produzidos por *Streptomyces mediterranei*. O fármaco citado é também utilizado no tratamento de infecções por outros agentes bacterianos, como *Neisseria meningitidis* e *Haemophilus influenzae*, sendo que para *Mycobacterium tuberculosis* a concentração mínima inibitória é inferior.
- III. A isoniazida tem ação bacteriostática para os bacilos de *M. tuberculosis* com metabolismo basal e bactericida para microrganismos em rápida multiplicação. O fármaco penetra com facilidade nas células e se mostra eficaz contra bacilos que crescem no interior das células. Consiste ainda em um fármaco notavelmente seletivo para as micobactérias, sendo também incluído na terapia de infecções por *M. kansasii*.

Assinale:

- (A) se somente a afirmativa I estiver correta.
- (B) se somente as afirmativas I e III estiverem corretas.
- (C) se somente a afirmativa II estiver correta.
- (D) se somente as afirmativas I e II estiverem corretas.
- (E) se todas as afirmativas estiverem corretas.

53

Um dos problemas significativos na quimioterapia da tuberculose consiste na resistência bacteriana aos fármacos. A adesão precária do paciente ao tratamento favorece a reincidência da doença e a ocorrência de mutações favoráveis aos microrganismos.

Em relação aos mecanismos de resistência, os mecanismos de ação dos fármacos e os mecanismos de resistência existente em variantes de *M. tuberculosis*, analise as afirmativas a seguir.

- I. A isoniazida inibe a síntese de ácidos micólicos na parede celular de micobactérias por meio de mecanismos que envolvem unicamente a interação com produtos do gene *inhA*, que codifica uma enoil-ACP redutase II atuante na biossíntese lipídica. Mutações na sequência gênica do *inhA* são responsáveis pelo fenótipo de resistência.
- II. A resistência microbiana à rifampicina decorre de uma alteração na sequência de aminoácidos do produto do gene, decorrente de mutações pontuais especialmente nos códons 507 e 533. Os mutantes bacterianos resistentes à rifampicina também apresentam maior virulência.
- III. O etambutol bloqueia as arabinosil transferases envolvidas na biossíntese da parede celular de micobactérias. O fenótipo de resistência surge a partir de alterações na sequência de aminoácidos do gene *embA*.

Assinale:

- (A) se somente a afirmativa I estiver correta.
- (B) se somente as afirmativas II e III estiverem corretas.
- (C) se somente a afirmativa II estiver correta.
- (D) se somente as afirmativas I e III estiverem corretas.
- (E) se todas as afirmativas estiverem corretas.

54

A baciloscopia corresponde atualmente a um método rápido e de baixo custo para o diagnóstico de tuberculose. Apesar da baixa sensibilidade, o método baseado na coloração de Ziehl-Neelsen apresenta valor preditivo negativo acima de 90%. Considerando os conceitos da baciloscopia no diagnóstico de infecções por micobactérias, assinale a alternativa **incorreta**.

- (A) Micobactérias de crescimento rápido podem exibir álcool-ácido resistência em menos de 10% das células e podem não corar com fluorocromos.
- (B) Micobactérias não tuberculosas apresentam características pleomórficas e podem exibir filamentos longos ou formas cocóides na baciloscopia.
- (C) A sensibilidade da baciloscopia varia entre 22 a 80%. Um dos fatores que influencia essa sensibilidade é a quantidade mínima de escarro submetida para análise, que deveria ser acima de 5mL para favorecer a detecção dos bacilos.
- (D) A coloração com fluorocromos é mais sensível que a utilização de fucsina fenicada ou carbol fucsina, mesmo quando os esfregaços são analisados em menor aumento.
- (E) Semelhante aos índices de sensibilidade, a especificidade da baciloscopia pelo método de Ziehl-Neelsen varia de acordo com a quantidade mínima de escarro submetida a análise, podendo ser inferior aos valores de sensibilidade.

55

Com base nos conceitos sobre os aspectos farmacocinéticos e de absorção, biodisponibilidade, efeitos adversos e distribuição dos fármacos utilizados na terapia da tuberculose, assinale a alternativa correta.

- (A) A isoniazida apresenta boa penetração em material caseoso e se apresenta em concentrações elevadas no plasma. Todavia, as concentrações do fármaco no líquido cefalorraquidiano (LCR) com meninges inflamadas são inferiores ao plasma. Apresenta excreção urinária na forma de produtos resultantes da metabolização por acetilação e hidrólise enzimática em diversos tecidos como músculos e rins.
- (B) A rifampicina é eliminada rapidamente na bile sofrendo circulação enterohepática, durante a qual o fármaco sofre desacetilação resultando na forma ativa do fármaco. A rifampicina distribui-se por todos os tecidos, sendo encontrada em concentrações eficazes inclusive no LCR. Dentre as reações adversas da administração da rifampicina, são comuns o exantema, febre, náuseas e vômitos, e a coloração laranja-avermelhada na urina.
- (C) A pirazinamida não apresenta distribuição efetiva pelo sistema nervoso central, devido a sua baixa penetração por meio da barreira hemato-encefálica, restringindo sua efetiva ação a outros tecidos e órgãos do organismo como pulmões e fígado. É excretada, primariamente, por filtração glomerular renal como metabólitos, ácido 5-hidroxipirazinóico em particular.
- (D) O etambutol apresenta meia-vida de 3 a 4 horas, depuração hepática, e excreção biliar e fecal. O efeito adverso mais importante consiste em neurite óptica, com conseqüente redução da acuidade visual, não sendo, por esse motivo, recomendado o uso em crianças menores do que cinco anos de idade.
- (E) A isoniazida e a pirazinamida consistem em potentes indutores das enzimas microssômicas hepáticas, sua administração determina uma redução da meia vida de compostos como inibidores da protease e inibidores não-nucleosídeos da transcriptase reversa do vírus da imunodeficiência humana (HIV).

56

Dentre micobactérias escotocromógenas, assinale a espécie que **não** pertence ao grupo.

- (A) *Mycobacterium xenopi*.
 (B) *Mycobacterium marinum*.
 (C) *Mycobacterium gordonae*.
 (D) *Mycobacterium flavescens*.
 (E) *Mycobacterium celatum*.

57

As micobactérias de crescimento rápido são comumente encontradas no ambiente em solo e em fontes de água. São reconhecidas como contaminantes de medicamentos injetáveis, artigos e dispositivos para a saúde. Dentre as espécies abaixo, assinale a espécie que **não** é de crescimento rápido.

- (A) *Mycobacterium thermoresistibile*.
 (B) *Mycobacterium immunogenum*.
 (C) *Mycobacterium neoaurum*.
 (D) *Mycobacterium simiae*.
 (E) *Mycobacterium wolinskyi*.

58

Dentre as novas e eficazes técnicas de detecção molecular de *Mycobacterium tuberculosis*, a metodologia denominada Gene XPert (Cepheid) apresenta os aspectos mais promissores, especialmente devido a redução do tempo de detecção do patógeno, inclusive da resistência a rifampicina. Sobre o tema, analise as afirmativas a seguir.

- I. O método XPert MTB/RIF consiste em um método automatizado utilizando um ensaio baseado em reação de polimerização em cadeia baseado em *hemi-nested real time* para amplificação parcial do gene *rpoB* e hibridação.
- II. O teste é realizado em até duas horas, utilizando uma plataforma XPert MTB/RIF com integração do processamento do espécime e PCR em um único recipiente, contendo todos os reagentes para amplificação e detecção do produto amplificado.
- III. O método exige a realização de etapas de lise bacteriana e extração do DNA por meio de protocolo simplificado anterior à utilização do cartucho para amplificação e detecção do produto amplificado.

Assinale:

- (A) se somente a afirmativa I estiver correta.
 (B) se somente as afirmativa I e II estiverem corretas.
 (C) se somente a afirmativa II estiver correta.
 (D) se somente a afirmativa III estiver correta.
 (E) se todas as alternativas estiverem corretas.

59

Na identificação de cepas de *Mycobacterium tuberculosis*, o teste da niacina consiste em um dos métodos de escolha para tal finalidade. Sobre o princípio do método, analise as afirmativas a seguir.

- I. A niacina (ácido nicotínico) funciona como co-fator de enzimas que atuam no processo de biossíntese de NAD e NADPH.
- II. Cepas de *M. tuberculosis* com resultados negativos nesse teste são raras, porém já foram detectadas na prática laboratorial.
- III. Cepas pertencentes às espécies de micobactérias não-tuberculosas não acumulam ácido nicotínico no meio de cultura.

Assinale:

- (A) se somente as alternativas I e III estiverem corretas.
 (B) se somente as alternativas I e II estiverem corretas.
 (C) se somente a alternativa II estiver correta.
 (D) se somente a alternativa III estiver correta.
 (E) se todas as alternativas estiverem corretas.

60

Nas últimas décadas, estudos sobre aplicações da citometria de fluxo em microbiologia clínica, incluindo detecção de patógenos e testes de susceptibilidade a antimicrobianos, têm contribuído significativamente nas áreas de fisiologia bacteriana e de interações patógeno-hospedeiro. Sobre as variantes metodológicas do método, assinale a alternativa **incorreta**.

- (A) Dentre as vantagens da citometria de fluxo, podemos citar o uso simultâneo de marcadores múltiplos além de análises qualitativas e quantitativas multivariada dos dados e análise de populações heterogêneas e polimicrobianas.
- (B) Dependendo da variante, alguns corantes permitem distinguir células viáveis das não viáveis em uma suspensão.
- (C) Algumas variantes metodológicas permitem o uso de marcadores diversos para pH, antígenos, lipídeos, polímeros de carboidratos, sequências nucleotídicas, DNA, RNA, proteínas, atividade enzimática e antígenos, separados ou combinados.
- (D) A metodologia permite a separação de células de dimensões distintas em diferentes coletores.
- (E) Uma limitação do método é a impossibilidade de monitoramento das terapia antimicrobiana em um quadro infeccioso com a análise direta do espécime clínico como flúidos e exsudatos.



F U N D A Ç Ã O
GETULIO VARGAS

FGV PROJETOS