

MICROBIOLOGIA BÁSICA (BMM-271) - ODONTOLOGIA - NOTURNO 2017

Carga Horária ; 60 horas Créditos: 4

| DATAS | Teóricas | Teóricas ou práticas | |
|---|---|---|--|
| Março 23 - Quinta 30 - Quinta | Introdução - Características gerais e multiplicação dos vírus Vírus respiratórios | Efeito citopático (P) Prática 1 Vírus dermatotróficos (T) | |
| Abril 06 - Quinta 13 - Quinta | Morfologia e estruturas bacterianas Nutrição bacteriana/Meios de cultura. Metabolismo bacteriano | Citologia e morfologia bacterianas – Prática 2 Técnicas de semeadura e isolamento – Prática 3 Coloração de Gram - Prática 4 | |
| 20 - Quinta 27 - Quinta | Genética bacteriana/Antimicrobianos: Mecanismos de ação Antimicrobianos: Mecanismos de resistência | Antibiograma - Prática 5 Leitura/Discussão - Prática 5 | |
| Maio 04 - Quinta 11 - Quinta | Controle microbiano por métodos químicos e físicos AVALIAÇÃO I | Controle microbiano por agentes físicos e químicos - Prática 6 Leitura e Discussão - Prática 6 | |
| 18 - Quinta 25 - Quinta | Mecanismos de virulência bacteriana - Patogenicidade Microbiota residente humana | <i>Enterobactérias</i> – <i>Neisserias</i> Grupo de discussão Reunião Grupos | |
| Junho | | | |
| 01 - Quinta 08 - Quinta | SEMINÁRIOS (Adote uma Bactéria : Odonto 2017)* SEMINÁRIOS (Adote uma Bactéria : Odonto 2017)* | SEMINÁRIOS (Adote uma Bactéria: Odonto)* SEMINÁRIOS (Adote uma Bactéria: Odonto)* | |
| 15 FERIADO | | | |
| 22 - Quinta 29 - Quinta | Características gerais dos fungos Antifúngicos – mecanismos de ação e de resistência | Morfologia e diversidade dos fungos – Prát.7 Testes de susceptibilidade aos antifúngicos – Prática 8 | |
| Julho | | | |
| 06 - Quinta | AVALIAÇÃO II (Prova Final) | Prova seminários (Adote uma Bactéria: Odonto) | |
| <i>*Adote uma Bactéria</i> | <i>. Streptococcus . Staphylococcus . Clostridium</i> <i>. Mycobacterias . Lactobacillus . Pseudomonas</i> | | |

Coordenadora: Profa. Dra. Rita de Cássia Café Ferreira (Noturno) – ritacafe@usp.br

Docentes colaboradores: Profa. Dolores D. Mehnert ; Prof. Márcio Dias ; Prof. Dr. Luís Carlos de S. Ferreira
Prof. Dr. Robson Francisco de Souza ; Profa. Kelly Ishida; Prof. Carlos Taborda

Aluno PAE: Paulo Afonso Schuroff

Técnicos: Eduardo Gimenes ---- Tatiana Reis ----- Zita Gregório --- Telma

Apostila Aulas Práticas



MICROBIOLOGIA BÁSICA (BMM-271)

ODONTOLOGIA

NOTURNO 2017

BMM 271 – Microbiologia Básica

NORMAS A SEREM SEGUIDAS NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA

- 01) O uso de AVENTAL branco, comprido e abotoado, é OBRIGATÓRIO no laboratório de aulas práticas, a fim de proteger a roupa de possível contaminação.
- 02) As bolsas, pacotes, livros etc., deverão ser colocados embaixo da bancada do laboratório de aulas práticas e **nunca** sobre as bancadas de trabalho.
- 03) Não comer no laboratório. Não beber água das torneiras. PROIBIDO USO DE CELULAR.
- 04) Manter as mãos, canetas, lápis e quaisquer outros objetos sem contato com a boca ou a face.
- 05) Antes de cada aula prática serão dadas as instruções sobre a maneira de executar os trabalhos. Não iniciar um trabalho prático sem haver lido, cuidadosamente, as instruções e compreendido o modo de execução da experiência e seu objetivo. Consultar o professor se encontrar dificuldades para entender ou para executar os trabalhos práticos. Verificar se o material está completo; no caso de falta de algum, dirija-se imediatamente ao professor.
- 06) Durante o curso serão utilizados microrganismos **potencialmente** patogênicos para o homem e animais. Não haverá perigo se as técnicas de laboratório forem executadas cuidadosamente.
- 07) Em caso de qualquer acidente (derramamento de cultura, por exemplo), comunicar imediatamente ao professor ou ao pessoal técnico do laboratório, para que sejam tomadas as providências necessárias.
- 08) Todo o material contaminado (pipetas, bastões, lâminas, lamínulas etc.) deverá ser colocado nos recipientes adequados (provetas, cubas com desinfetantes etc.) para ser esterilizado; nunca deixá-lo sobre a mesa de trabalho ou na pia.
- 09) A alça ou ponta de platina que se usa para semeadura do material ou repique de culturas deve ser aquecida até o rubro, tanto antes do uso como depois dele. Antes de tocar o material ou meio de cultura, deve-se deixar que a alça ou ponta esfrie, mantendo-a próxima à chama.
- 10) Os tubos de cultura deverão ser colocados nas estantes ou suportes adequados e nunca nos bolsos do avental.
- 11) O estudante é responsável pelo equipamento com que trabalha. Os microscópios devem ser manuseados cuidadosamente. Qualquer dano ou defeito deve ser imediatamente comunicado ao professor. Após o uso do microscópio limpar a objetiva de imersão, usando lenço de papel.
- 12) Após terminar os trabalhos práticos, verificar se as torneiras de água e de gás estão fechadas, as lâmpadas desligadas e os microscópios limpos. Deixar o local de trabalho sempre limpo.
- 13) LAVAR SEMPRE AS MÃOS, APÓS O TRABALHO PRÁTICO.

PRÁTICA 1

EFEITO CITOPÁTICO (ECP) - MÉTODO DE DETECÇÃO E DETERMINAÇÃO DE INFECTIVIDADE VIRAL

Profa. Dra. Dolores D. Mehnert

Introdução

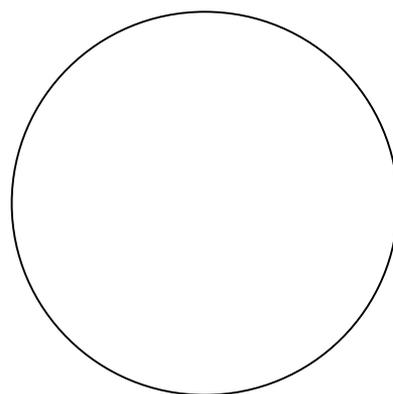
As alterações morfológicas que ocorrem quando células em cultura são infectadas por vírus são, até certo ponto, características para cada grupo de vírus e recebem o nome de efeito citopático (ECP). O efeito citopático não permite a identificação do vírus, mas fornece uma base para um agrupamento preliminar deste vírus. As alterações patológicas mais detalhadas podem ser estudadas através da infecção de células em monocamada, cultivadas sobre lamínulas. Após o aparecimento do efeito citopático, causado pela infecção com vírus, as lamínulas são fixadas, coradas através de métodos citológicos de coloração, como por exemplo, o método da hematoxilina-eosina, e montadas em lâminas de microscópio.

Os vírus multiplicam-se no citoplasma ou no núcleo das células, onde se agrupam formando massas densas chamadas de "corpúsculos de inclusão". Assim, nas lesões produzidas nos tecidos infectados pelos vírus, do homem ou de outros animais, poderemos encontrar células com corpúsculos de inclusão que, pelas suas características permitem a identificação do vírus que os produz e, portanto, chegar ao diagnóstico da doença.

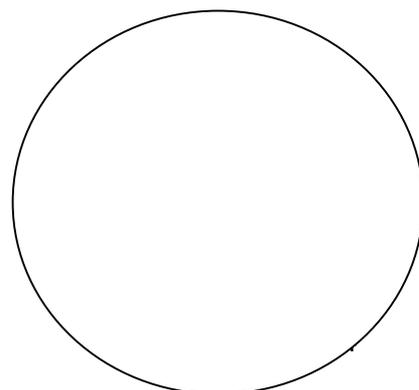
Exercício:

Observar ao microscópio as lâminas apresentadas e fazer um esquema com legenda dos efeitos citopáticos observados.

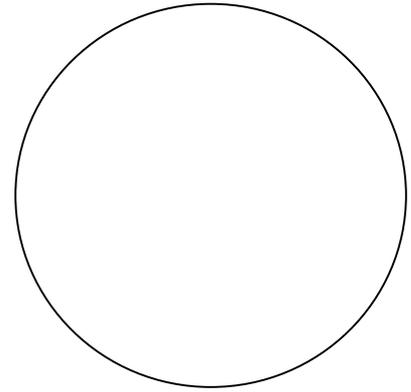
a) Células do tipo epitelial, de cultura normal, não inoculada, formando camada monocelular contínua. Apresentam o citoplasma corado em rosa e o núcleo em azul, com um, dois ou três nucléolos bem evidentes.



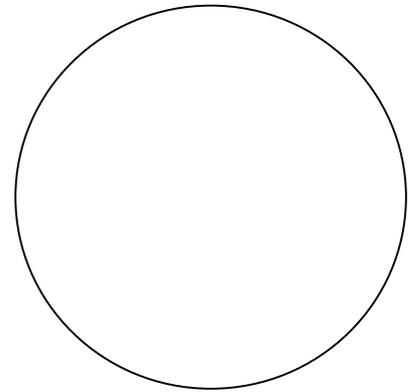
b) Efeito citopático produzido por **poliovírus** e outros picornavírus: as células apresentam-se pequenas, com formas irregulares, isoladas ou em grupos, com o citoplasma eosinófilo e núcleo picnótico e reduzido em volume.



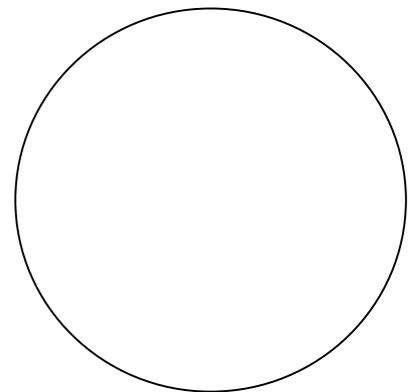
c) Efeito citopático produzido por **adenovírus**: as células infectadas apresentam-se grandes, arredondadas, e, às vezes, reunidas em "cachos", com alterações nucleares evidentes e características. **Corpúsculos de inclusão**: eosinófilos nucleares ou massas cristalinas basofílicas, segundo o tipo de adenovírus.



d) Efeito citopático produzido pelo **vírus do sarampo**: as células infectadas mostram-se multinucleadas, hiperplásicas, mas seus núcleos apresentam estruturas ainda conservadas. Há "pontes citoplasmáticas" intercelulares, que conferem a algumas células, forma estrelada. **Corpúsculos de inclusão**: eosinófilos, nucleares ou citoplasmáticos.



g) **Corpúsculo de inclusão da citomegalia**. O vírus da citomegalia é um vírus DNA pertencente ao grupo dos Herpesvírus. O material da lâmina é corte histológico de glândula salivar, corado pelo método da hematoxilina/eosina. Vêm-se células aumentadas de tamanho (cerca de oito vezes o das células normais circundantes), fazendo saliência na luz dos ductos salivares. Os núcleos se tornam volumosos e forma-se um corpúsculo de inclusão no seu interior, que está corado em azul escuro e circundado por um halo claro.



- a) Por quê alguns vírus apresentam corpúsculos de inclusão nucleares enquanto outros citoplasmáticos? O que o local de observação dos corpúsculos de inclusão sugere sobre a multiplicação viral?
- b) Que estrutura viral está relacionada à formação de sincício? Por quê?

PRÁTICA 2

MORFOLOGIA E CITOLOGIA BACTERIANA

Profa. Dra. Rita de Cássia Café Ferreira

Prof. Dr. Márcio Dias

1. Material: lâminas com esfregaços de diferentes espécimes, já coradas, e óleo de imersão.
2. Observação ao microscópio ótico, **objetiva de 100X**.
 - 2a. Depositar uma gota de óleo de imersão no centro do esfregaço corado
 - 2b. Colocar a lâmina no microscópio
 - 2c. Imergir a lente da objetiva de imersão (100X) no óleo, até encostá-la na lâmina
 - 2d. Levantar ao máximo o condensador e abrir totalmente o diafragma
 - 2e. Focalizar com o macrométrico até notar o campo e, a seguir, aperfeiçoar o foco com o micrométrico
 - 2f. Terminada a observação, retirar a lâmina
 - 2g. **Limpar a objetiva com lenço de papel e desligar o microscópio**
3. Observação das formas bacterianas, arranjos e estruturas:
 - 3a. Cocos Gram-positivos em cadeias (estreptococos)
 - 3b. Cocos Gram-positivos em cachos (estafilococos)
 - 3c. Bacilos Gram-positivos
 - 3d. Cocobacilos Gram-negativos
 - 3e. Cocos Gram-negativos (*Neisseria gonorrhoeae*) em secreção uretral
 - 3f. Esporos (coloração de Wirtz)
 - 3g. Espiralados (técnica de Fontana-Tribondeau, impregnação com sais de prata)
 - 3h. Cápsula (coloração negativa da cápsula)
4. Desenhar a morfologia, arranjo e coloração das bactérias focalizadas e suas estruturas.
5. Qual o aumento final das bactérias observadas?

PRÁTICA 3

TÉCNICAS DE SEMEADURA E ISOLAMENTO BACTERIANO

Profa. Dra. Rita de Cássia Café Ferreira

Prof. Dr. Márcio Dias

Meios de cultura

As bactérias exigem determinados nutrientes para que possam se multiplicar. Para síntese de seus próprios constituintes devem dispor de fonte de carbono (açúcares), nitrogênio (peptonas), sais orgânicos, vitaminas e outros fatores de crescimento.

1. Meios básicos de cultura:

- a. Caldo simples: constituído basicamente de extrato de carne e peptona.
- b. Agar simples: adiciona-se ágar ao caldo simples. O ágar é um polissacarídeo extraído de algas marinhas, que não é metabolizado por bactérias, com a finalidade de endurecer o meio de cultura líquido.

2. Classificação dos meios de cultura:

a. quanto à consistência:

- **meios líquidos**: utilizados para crescimento de microrganismos, em culturas puras.
- **meios sólidos** em placa de Petri: para obtenção de colônias isoladas, antibiograma, assimilação de açúcares.
- **meios semi-sólidos** em tubos: para verificar mobilidade e fermentação de açúcares.

b. quanto à função:

- **meios simples**: possuem os componentes essenciais para o crescimento de microrganismos pouco exigentes. Ex.: caldo simples.
- **meios enriquecidos**: meios simples acrescidos de substâncias de enriquecimento, tais como sangue de animais, soro, ovo, extrato de cérebro, açúcares, extrato de levedura, extrato de soja entre outros. Ex.: ágar sangue.
- **meios seletivos**: meios que favorecem o desenvolvimento de determinados microrganismos, mas inibem a proliferação de outros, devido à adição de substâncias inibidoras, determinados nutrientes, pH, pressão osmótica, etc. Ex. de substâncias seletivas:

- ◆ novobiocina: inibe *Proteus* spp.
- ◆ sais biliares: em altas concentrações (8,5%) inibem Gram-positivos e esporulados.
- ◆ azida sódica: inibe fungos.
- ◆ bacitracina: inibe espécies de *Streptococcus*, com exceção de *Streptococcus mutans*.
- ◆ cristal violeta (em certas concentrações): inibe Gram-positivos.
- ◆ telurito de potássio: favorece crescimento de Gram-positivos (Ex. *Streptococcus*)

Exemplo de meio seletivo: Mitis-salivarius bacitracina (MSB) acrescido de sacarose. Este meio inibe consideravelmente o crescimento de várias espécies de *Streptococcus* enquanto que *S. mutans* cresce com facilidade.

- **meios seletivos diferenciais:** utilizados para isolamento e identificação presuntiva de bactérias. Permitem o desenvolvimento de grupos de microrganismos com características definidas, que os diferenciam dos demais grupos. Estas características geralmente podem ser evidenciadas através de formas ou cores das colônias ou coloração do meio ao redor das mesmas. Ex.: Agar MacConkey. Neste meio, que contém lactose e vermelho neutro (indicador de pH), *Escherichia coli* e *Enterobacteraerogenes* fermentam a lactose com produção de ácidos, o que diminui o pH, produzindo colônias de coloração rosa ou vermelho, enquanto *Proteusspp*, *Shigella spp.* e *Salmonella spp.* (não fermentam a lactose), apresentam colônias incolores ou brancas. Este meio contém ainda sais biliares e cristal violeta.

TÉCNICAS DE ISOLAMENTO

Para determinar a espécie bacteriana presente em uma amostra clínica, é importante isolar o microrganismo em cultura pura, para posterior diagnóstico de uma doença, para teste de sensibilidade a antibióticos, preparo de vacinas, etc.

Serão utilizadas duas técnicas: o **método de esgotamento por estrias** e o método de diluições e **semeadura em superfície de meio de cultura com alça de Drigalsky**.

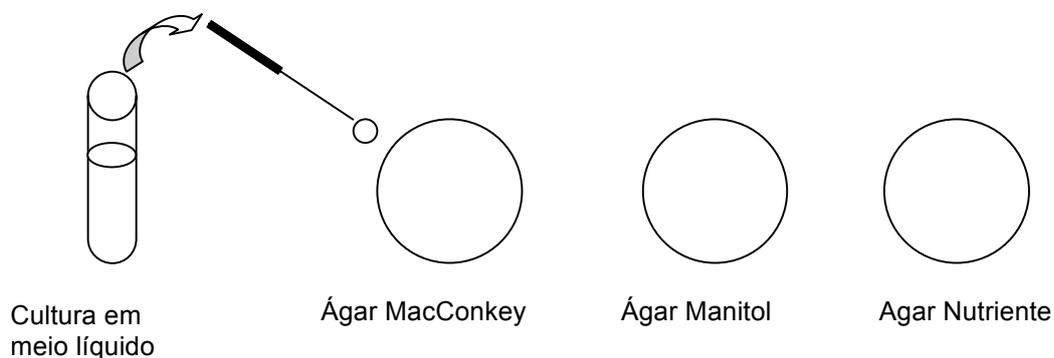
Exercício1:

Objetivo: isolar as amostras bacterianas de uma cultura, em meio líquido, através da técnica de esgotamento por estrias.

Material: 3 placas de Petri

1 tubo com cultura de *E. coli* ou 1 tubo com cultura de *S. aureus*.

Semear cada tubo nos três meios de cultura.



- Observar:

1. Quantidade de colônias em cada campo
2. Distribuição nos "3 campos"
3. Aspectos morfológicos das colônias

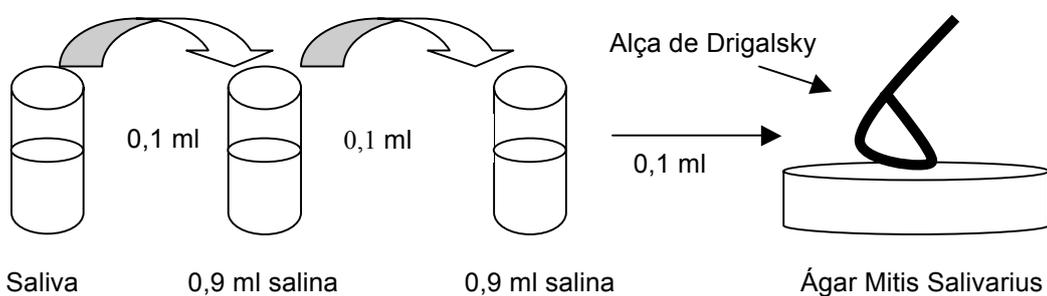
4. Características tintoriais: coloração de Gram de cada tipo de colônia.

Complete a tabela e explique os resultados obtidos em cada meio de cultura

| Resultados | Semeadura em estria | | | | | | | | |
|------------------------------------|---------------------|---|---|---------|---|---|----|---|---|
| | MacConkey | | | Manitol | | | AN | | |
| | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| No. de colônias | | | | | | | | | |
| Aspecto e morfologia das colônias | | | | | | | | | |
| Gram (aspecto versus coloração) | | | | | | | | | |

Exercício 2:

Objetivo: obtenção de crescimento bacteriano homogêneo em superfície de meio sólido através da utilização de alça de Drigalsky, após diluições do espécime clínico (Ex.: saliva).



Observar:

- distribuição homogênea de crescimento
- aspecto das colônias

PRÁTICA 4

TÉCNICA DE COLORAÇÃO DE GRAM

Profa. Dra. Rita de Cássia Café Ferreira

Prof. Dr. Márcio Dias

Material necessário:

1. Cultura de bactérias na forma de cocos e cultura de bacilos em meio líquido ou em meio sólido.
2. Lâminas para microscopia
3. Alça de platina
4. Tubo contendo solução salina esterilizada
5. Bateria para coloração de Gram
6. Microscópio, suporte para lâminas.

Procedimentos:

- Identificar as lâminas
- Aquecer a alça bacteriológica ao rubro e, a seguir, deixá-la esfriar, conservando-a próxima ao fogo.
- Remover o material a ser analisado, sem contaminar.
- Depositar sobre a lâmina a suspensão bacteriana e espalhar.
- Deixar o esfregaço secar naturalmente, nas proximidades do fogo.
- Fixar o esfregaço pelo calor e esperar a lâmina esfriar antes de realizar a coloração.
- Cobrir o esfregaço com **violeta de genciana**, esperar um minuto, lavar com água.
- Colocar **lugol**, esperar um minuto, lavar novamente com água. **O lugol é uma solução aquosa de iodo a 1% mais iodeto de potássio a 2%.**
- Diferenciar com **álcool** até não se observar mais a saída de corante, lavar com água.
- Cobrir com **fucsina**, esperar 20 segundos e lavar com água. Secar a lâmina e observar ao microscópio.
- Anotar os resultados obtidos.
- Limpar as objetivas do microscópio e desligá-lo.

Coloração de Gram

A coloração de Gram foi desenvolvida em 1884 pelo bacteriologista holandês Hans Christian Gram. Esta coloração é uma das mais importantes e é rotineiramente utilizada no laboratório de Microbiologia. Ela divide as bactérias em dois grandes grupos: GRAM POSITIVAS e GRAM-NEGATIVAS, além de permitir o estudo da célula bacteriana quanto à sua morfologia (cocos ou bacilos) e arranjo.

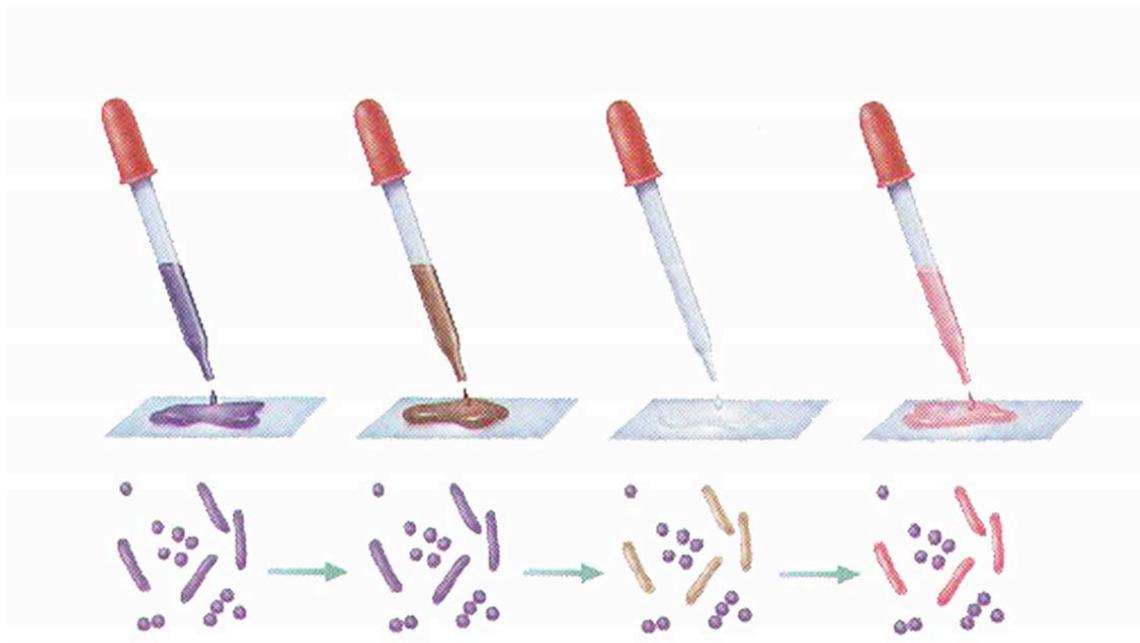
As bactérias capazes de reter o complexo formado pelo cristal violeta (CV) mais o lugol, formando o complexo iodo pararosanilina, coram-se em violeta (Gram-positivo), enquanto que as que não retêm o complexo, após aplicação do álcool, coram-se em vermelho (Gram-negativo), pela fucsina.

A coloração de Gram é uma coloração diferencial porque não cora todos os tipos de células igualmente. Essa maneira de reagir diferentemente, frente ao Gram, é em razão das diferenças na estrutura da parede celular das bactérias gram-positivas e gram-negativas.

Bactérias gram-positivas possuem uma camada de peptidoglicano mais espessa que as gram-negativas. Quando aplicado em células gram-positivas e gram-negativas o cristal violeta (CV) e o lugol penetram facilmente, e dentro das células (citoplasma) combinam-se formando o complexo CV-iodo.

Nas células gram-negativas o álcool remove lipídios da membrana externa celular, penetra pela fina camada de peptidoglicano e o complexo iodo-pararosanilina é removido do citoplasma. Estas células são então contracoradas pelo segundo corante, a fucsina, e aparecem vermelhas.

Técnica de Coloração de Gram



Aplicação de cristal violeta

Aplicação de Lugol

Lavagem com álcool-éter

Aplicação de fucsina

Questão: nas culturas em meio líquido os bacilos são _____ e os cocos são _____.

PRÁTICA 5

ANTIBIOGRAMA

Profa. Dra. Rita Café Ferreira

Prof. Dr. Márcio Dias

O antibiograma é um teste que permite a verificação “in vivo” da sensibilidade de uma bactéria aos antibióticos. Esta sensibilidade é demonstrada pela zona ou halo de inibição de crescimento que se forma em volta do disco de antibiótico. De acordo com o DIÂMETRO do halo de inibição diz-se que a bactéria é sensível ou resistente.

Método de Difusão em ÁGAR (Método de Kirby-Bauer)

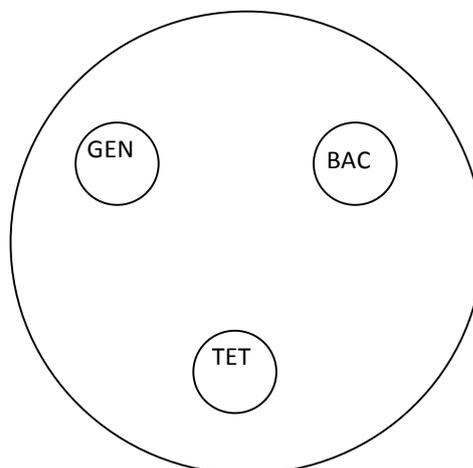
Material:

- Cultura bacteriana crescida por 18 horas (10^5 células por mL);
- Placas com meio de cultura Müller-Hinton;
- Discos de antibióticos;
- Cotonetes e pinças esterilizadas.

Procedimento:

1. Agitar bem a cultura bacteriana (*Escherichia coli* ou *Staphylococcus aureus*);
2. Umedecer o cotonete na suspensão bacteriana, retirando o excesso ao apertar o cotonete contra a parede interna do tubo;
3. Espalhar a suspensão bacteriana em toda a superfícies do meio de cultura, de modo homogêneo, inclusive nas bordas;
4. Colocar os discos de antibióticos com auxílio da pinça sobre a superfície do meio e de modo equidistante (ver figura);
5. Incubar as placas a 37°C por 18 horas.

Gentamicina (GEN)
Tetraciclina (TET)
Bacitracina (BAC)



Resultados

Leitura e interpretação: Verificar a presença ou ausência de halo de inibição ao redor dos discos. Medir o DIÂMETRO dos halos (em milímetros) e verificar na tabela o resultado obtido.

Interpretação de halos de inibição

| Antibiótico | concentração | sigla | resistente | intermediário | sensível |
|----------------|--------------|-------|------------|---------------|----------|
| Tetraciclina | 30µg | TET | 14 ou – | 15 a 18 | 19 ou + |
| Bacitracina | 10µg | BAC | 8 ou – | 9 a 12 | 13 ou + |
| Gentamicina | 10µg | GEN | 12 ou – | 13 a 14 | 15 ou + |
| Cefalotina | 30µg | CFL | 14 ou – | 15 a 17 | 18 ou + |
| Ciprofloxacina | 5µg | CIP | 15 ou – | 16 a 20 | 21 ou + |
| Cloranfenicol | 30µg | CLO | 12 ou – | 13 a 17 | 18 ou + |

Completar de acordo com os resultados obtidos por toda a turma

| Grupo | Bactéria | TET | BAC | GEN | CFL | CIP | CLO |
|----------|------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Esperado | <i>E. coli</i> | | | | | | |
| Esperado | <i>S. aureus</i> | | | | | | |
| | | | | | | | |
| 1 | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | |
| 3 | | | | | | | |
| 4 | | | | | | | |
| 5 | | | | | | | |
| 6 | | | | | | | |
| 7 | | | | | | | |
| 8 | | | | | | | |
| 9 | | | | | | | |
| 10 | | | | | | | |
| 11 | | | | | | | |
| 12 | | | | | | | |
| 13 | | | | | | | |
| 14 | | | | | | | |
| 15 | | | | | | | |
| 16 | | | | | | | |
| 17 | | | | | | | |
| 18 | | | | | | | |
| 19 | | | | | | | |
| 20 | | | | | | | |

TABELA I

Tabela para interpretação de halos de inibição (*) antibacterianos para organismos Gram positivos e negativos

| Antibacterianos | Conc. Discos | Código | Zona de Inibição em mm | | | |
|---|--------------|--------|------------------------|-------------------|---------------------|----------|
| | | | Resistente | (a) intermediário | (a) Moder. sensível | Sensível |
| Amicacina (b) | 30 µg | AMI | ≤ 14 | 15 - 16 | - | ≥ 17 |
| Ampicilina (c) | | | | | | |
| - p/ Gram negativos entéricos | 10 µg | AMP | ≤ 11 | 12 - 13 | - | ≥ 14 |
| - p/ Staphylococcus (d) | 10 µg | AMP | ≤ 28 | - | - | ≥ 29 |
| - p/ Haemophilus sp (e) | 10 µg | AMP | ≤ 19 | - | - | ≥ 20 |
| - p/ enterococos (f,g) | 10 µg | AMP | ≤ 16 | - | ≥ 17 (g) | - |
| p/ estreptococos não enterococos (f,g) | 10 µg | AMP | ≤ 21 | - | 22 - 29 | ≥ 30 |
| Carbenicilina | | | | | | |
| - p/ Enterobactérias (d) | 100 µg | CAR | ≤ 17 | 18 - 22 | - | ≥ 23 |
| - p/ Pseudomonas | 100 µg | CAR | ≤ 13 | 14 - 16 | - | ≥ 17 |
| Cefazolina (h) | 30 µg | CFZ | ≤ 14 | 15 - 17 | - | ≥ 18 |
| Cefotaxima (h) | 30 µg | CTX | ≤ 14 | - | 15 - 22 | ≥ 23 |
| Cefoxitina (h) | 30 µg | CFO | ≤ 14 | 15 - 17 | - | ≥ 18 |
| Cefalotina (h) | 30 µg | CFL | ≤ 14 | 15 - 17 | - | ≥ 18 |
| Cefoperazona (h) | 75 µg | CPZ | ≤ 15 | 16 - 20 | - | ≥ 18 |
| Ceftazidima (h) | 30 µg | CTZ | ≤ 14 | 15 - 17 | - | ≥ 18 |
| Cefuroxima (h) | 30 µg | CRX | ≤ 14 | 15 - 17 | - | ≥ 18 |
| Cloranfenicol | 30 µg | CLO | ≤ 12 | 13 - 17 | - | ≥ 18 |
| Clindamicina (j) | 2 µg | CLI | ≤ 14 | 15 - 16 | - | ≥ 17 |
| Doxiciclina (l) | 30 µg | DOX | ≤ 12 | 13 - 15 | - | ≥ 16 |
| Eritromicina | 15 µg | ERI | ≤ 13 | 14 - 17 | - | ≥ 18 |
| Estreptomicina | 10 µg | EST | ≤ 11 | 12 - 14 | - | ≥ 15 |
| Gentamicina (b) | 10 µg | GEN | ≤ 12 | 13 - 14 | - | ≥ 15 |
| Minociclina (l) | 30 µg | MIN | ≤ 14 | 15 - 18 | - | ≥ 19 |
| Nalidixico. Ac (i) | 30 µg | NAL | ≤ 13 | 14 - 18 | - | ≥ 19 |
| Netilmicina (b) | 30 µg | NET | ≤ 12 | 13 - 14 | - | ≥ 15 |
| Nitrofurantoina(i) | 300 µg | NIT | ≤ 14 | 15 - 18 | - | ≥ 17 |
| Oxaciclina | | | | | | |
| - p/ Staphylococcus (m) | 1 µg | OXA | ≤ 10 | 11 - 12 | - | ≥ 13 |
| - p/ pneumococcus penicilina sensível (e) | 1 µg | OXA | ≤ 19 | - | - | ≥ 20 |
| Penicilina G | | | | | | |
| - p/ Staphylococcus (d) | 10 UI | PEN | ≤ 28 | - | - | ≥ 29 |
| - p/ N. gonorrhoeas | 10 UI | PEN | ≤ 19 | - | - | ≥ 20 |
| - p/ enterococos (f,g) | 10 UI | PEN | ≤ 14 | - | ≥ 15 (g) | - |
| - outros Gram positivos (f,g) | 10 UI | PEN | ≤ 19 | - | 20 - 27 | ≥ 28 |
| Sulfonamidas (i,n) | 300 µg | SUL | ≤ 12 | 13 - 16 | - | ≥ 17 |
| Tetraciclina (l) | 30 µg | TET | ≤ 14 | 15 - 18 | - | ≥ 19 |
| Trimetoprima (i,n) | 5 µg | TRI | ≤ 10 | 11 - 15 | - | ≥ 16 |
| Sulfametoxazol / Trimetoprima | 25 µg | SUT | ≤ 10 | 11 - 15 | - | ≥ 16 |
| Tobramicina (b) | 10 µg | TOB | ≤ 12 | 13 - 14 | - | ≥ 15 |
| Vancomicina | 30 µg | VAN | ≤ 9 | 10 - 11 | - | ≥ 12 |

(*) Adaptado do NCCLS - (a, b, c,....) ver bula Cefar

TABELA COMPLEMENTAR II

Tabela padrão para interpretação de halos de inibição de antibacterianos não tabulados em I

| Antibacterianos | Conc. Discos | Código | Zona de Inibição em mm | | | |
|---------------------------------|--------------|--------|------------------------|-------------------|---------------------|----------|
| | | | Resistente | (a) intermediário | (a) Moder. sensível | Sensível |
| Amoxicilina | 10 µg | AMO | segue Ampicilina | | | |
| Bacitracina | 10 UI | BAC | ≤ 8 | 9 - 12 | - | ≥ 13 |
| Cefalexina | 30 µg | CEF | ≤ 14 | 15 - 17 | - | ≥ 18 |
| Cefaloridina | 30 µg | CFA | ≤ 14 | 15 - 17 | - | ≥ 18 |
| Cefadroxil | 30 µg | CFD | ≤ 14 | 15 - 17 | - | ≥ 18 |
| Cefapirina | 30 µg | CFP | ≤ 14 | 15 - 17 | - | ≥ 18 |
| Cefradina | 30 µg | CFI | ≤ 14 | 15 - 17 | - | ≥ 18 |
| Ceftriaxona | 30 µg | CRO | ≤ 13 | 14 - 17 | - | ≥ 18 |
| Ciprofloxacina | 5 µg | CIP | ≤ 15 | 16 - 20 | - | ≥ 21 |
| Cotrimazina | | | | | | |
| Sulfadiazina + Trimetoprima | 25 µg | SZT | ≤ 10 | 11 - 15 | - | ≥ 16 |
| Dicloxacilina | 1 µg | DIC | segue Oxacilina | | | |
| Fosfomicina | 20 µg | FOS | ≤ 11 | 12 - 17 | - | ≥ 18 |
| Lincomicina | 2 µg | LIN | ≤ 14 | 15 - 16 | - | ≥ 17 |
| Neomicina | 30 µg | NEO | ≤ 12 | 13 - 16 | - | ≥ 17 |
| Norfloxacina (**) | 10 µg | NOR | ≤ 12 | 13 - 16 | - | ≥ 17 |
| Pefloxacina (**) | 5 µg | PEF | ≤ 16 | 17 - 21 | - | ≥ 22 |
| Pipemidico, Ac. (**) | 20 µg | PIP | ≤ 13 | 14 - 18 | - | ≥ 19 |
| Polimixina - B | 300 UI | POL | ≤ 8 | 9 - 11 | - | ≥ 12 |
| Rifamicina - B | 30 µg | RFM | ≤ 33 | - | - | ≥ 34 |
| Rifampicina (**) | | | | | | |
| - p/ N. meningitidis | 5 µg | RIF | ≤ 24 | - | - | ≥ 25 |
| - p/ outros organismos | 30 µg | RIF | ≤ 11 | 12 - 18 | - | ≥ 19 |
| Rifampicina / Trimetoprima (**) | 35 µg | RIT | ≤ 11 | 12 - 14 | - | ≥ 15 |
| Sisomicina | 10 µg | SIS | ≤ 14 | 15 - 17 | - | ≥ 18 |
| Tianfenicol | 30 µg | TIA | ≤ 12 | 13 - 17 | - | ≥ 18 |

REFERÊNCIAS:

- 1 - Bauer, A. W.; Kirby, W. M. M.; Sherris, J. C. and Turck, M. - Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method. Amer. J. Clin. Path. 45: 493 - 6. 1966.
- 2 - Federal Register. col. 37, nº 191, September 30. 1972.
- 3 - NCCLS (National Commithes for Clinical Laboratory Standards). Oct. 1983. Performance Standard for Antimicrobial Disc Susceptibility Test. Vol. 3. nº 14.
- 4 - Ximenes, J. Importância da padronização da prova de sensibilidade bacteriana (Antibiograma). A Folha Médica vol. 66. nº 3, p. 113 - 116. 1973.

(**) Limites fornecidos pelo laboratório detentor do antibacteriano.

PRÁTICA 6

CONTROLE DO CRESCIMENTO BACTERIANO POR AGENTES FÍSICOS E QUÍMICOS

Profa. Dra. Rita Café Ferreira

Prof. Dr. Márcio Dias

I. Ação de agentes químicos

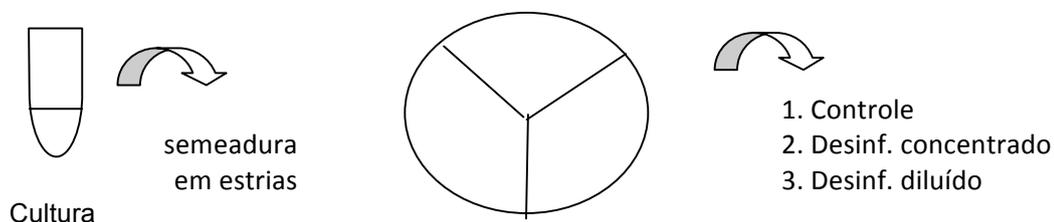
1.1. Desinfetantes comerciais

Material recebido:

- 2 tubos com *Escherichia coli* ou *Bacillus subtilis*;
- 1 placa de Agar Nutriente divididas em 3 partes;
- Desinfetante comercial (concentrado e diluído).

Procedimento :

- Transferir uma alçada de cada tubo para a área Controle da placa de Petri;
- Transferir 0,5 ml do desinfetante testado (concentrado e diluído) para o respectivo tubo contendo 0,5 ml de cultura bacteriana;
- Homogeneizar os tubos e aguardar 10 minutos;
- Transferir uma alçada de cada tubo para respectiva área da placa de Petri;
- Identificar as placas semeadas e incubar.



RESULTADOS:

| Espécie bacteriana | Controle | Concentrado | Diluído |
|--------------------------|----------|-------------|---------|
| <i>Escherichia coli</i> | | | |
| <i>Bacillus subtilis</i> | | | |

1.2. Antissepsia das mãos

1.1. Dividir o fundo da placa de Petri contendo meio de cultura em **3** partes iguais.

1.2. Com um cotonete esterilizado e umedecido em solução salina estéril, esfregar sobre a palma da mão e em seguida, semear o terço identificado da placa.

1.3. Lavar as mãos com detergente, vigorosamente, em todas as superfícies, durante 1 minuto, não secar com papel toalha! Em seguida realize o procedimento 1.2.

1.4. Aplicar, nas mãos pré-lavadas, álcool 70% durante 1 minuto. A seguir, realize novamente o procedimento 1.2.

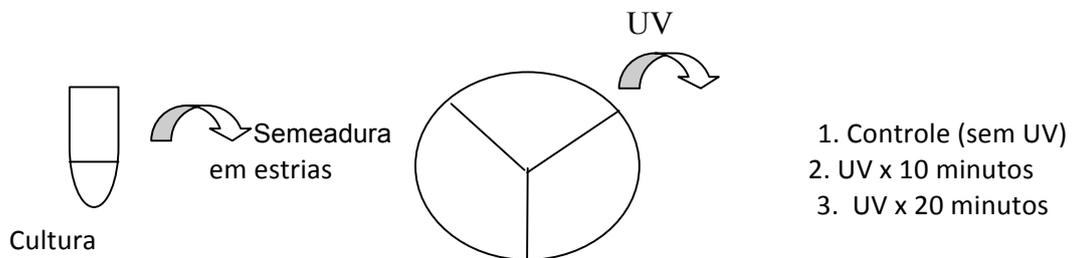
- As placas serão incubadas a 37° C x 24 horas.

RESULTADOS:

| | Crescimento | Gram |
|----------------------------|-------------|------|
| Mãos sem lavar | | |
| Mãos Lavadas | | |
| Antissepsia com álcool 70% | | |

II. Ação de Agentes Físicos

2.1. Ação da luz Ultravioleta (UV) - Aula Demonstrativa

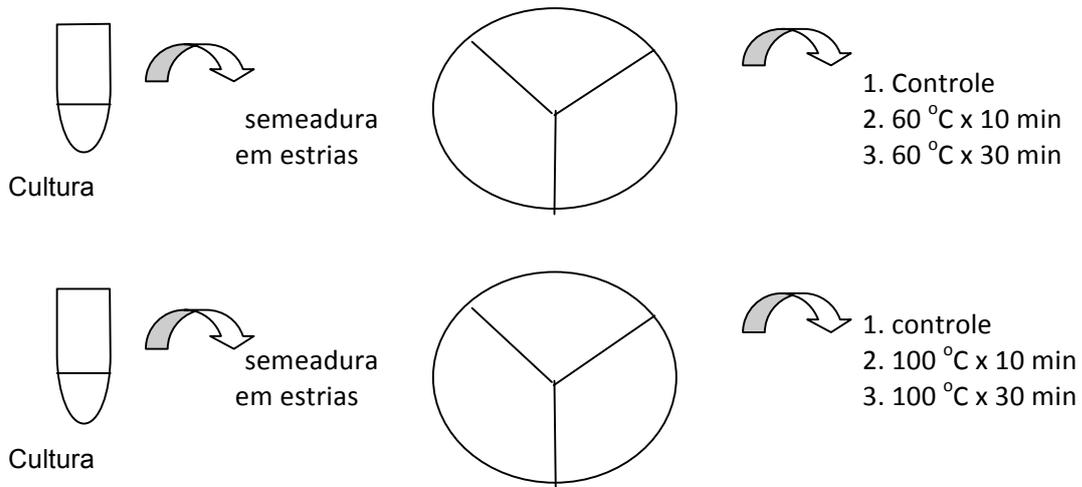


Incubação: as placas permanecerão embrulhadas em papel por 24 horas a 37 °C.

RESULTADOS:

| | <i>E. coli</i> | <i>Bacillus</i> |
|----------------|----------------|-----------------|
| Controle | | |
| U.V. x 10 min | | |
| U.V. x 20 min. | | |

2.2. Ação do calor - Aula Demonstrativa



Incubação: as placas permanecerão por 24 horas a 37 °C.

RESULTADOS:

| | <i>E. coli</i> | <i>Bacillus</i> |
|------------------|----------------|-----------------|
| Controle | | |
| 60° C x 10 min | | |
| 60° C x 30 min. | | |
| 100° C x 10 min. | | |
| 100° C x 30 min | | |