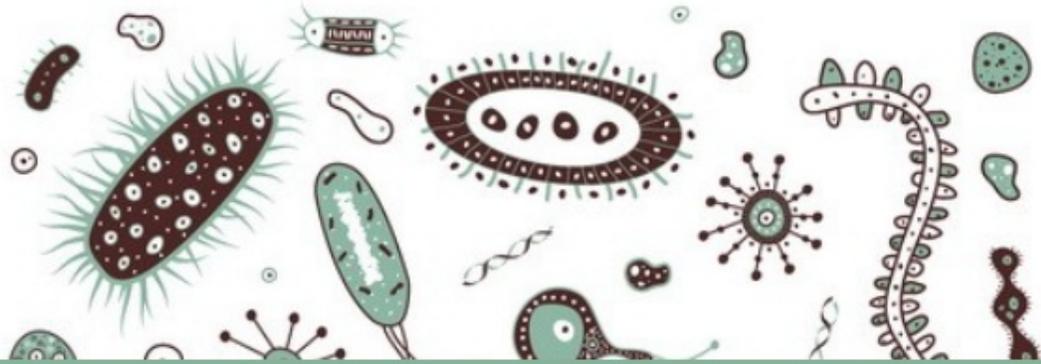


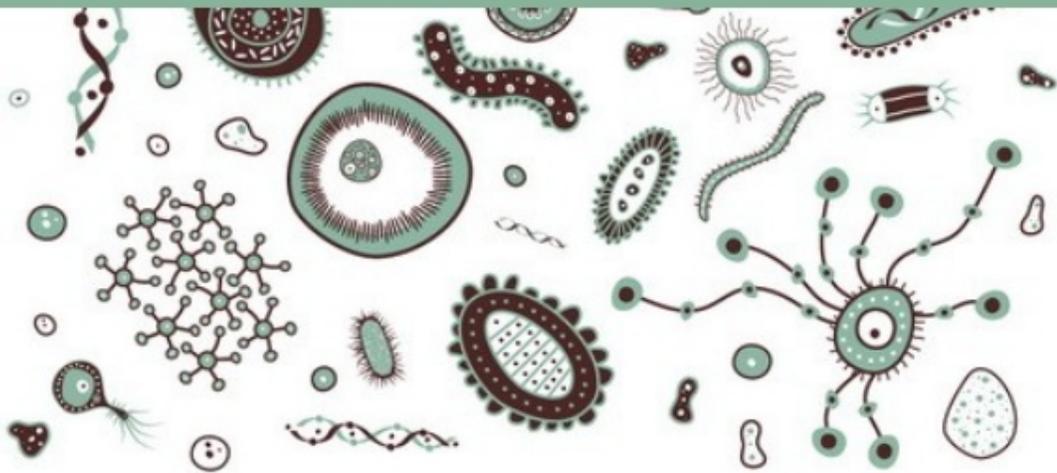


DEPARTAMENTO DE
MICROBiologia
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

DISCIPLINA MICROBIOLOGIA BMM-0450



Apostila de Bacteriologia



Prof. Nilton Lincopan (lincopan@usp.br)

**ROTEIRO DE EXERCÍCIOS PRÁTICOS 2021
FISIOTERAPIA**

INTRODUÇÃO À BIOSSEGURANÇA

I - NORMAS GERAIS DE SEGURANÇA PARA O TRABALHO NO LABORATÓRIO

1. Utilizar avental limpo.
2. Manter as unhas curtas e os cabelos curtos ou presos.
3. Portar somente material para anotações (caderno, caneta, lápis, marcador de tubos/vidros).
4. Não fumar no interior do laboratório.
5. Não comer, beber, mascar chicletes e não levar as mãos à boca.
6. Trabalhar de maneira sistemática e organizada, sempre com muita atenção.
7. Identificar adequadamente todo o trabalho realizado (placas de petri identificadas com nome e data na parte posterior - não na tampa).
8. Trabalhar com rigorosa assepsia.
9. Descartar o material utilizado nos recipientes/locais apropriados.
10. Não retirar nenhum material ou culturas do ambiente de trabalho.
11. Ao término dos trabalhos, ordenar e desinfetar o local, bem como, não esquecer de desligar o gás e apagar as luzes.
12. Antes de sair do laboratório, lavar sempre as mãos e, caso seja possível, lavar as unhas com escovinha e sabão desinfetante.
13. Comunicar todo e qualquer acidente ao responsável pelo laboratório.
14. Depois de usar o microscópio, desligar a luz e limpar a objetiva com lenço de papel.
15. Para facilitar a compreensão e o bom andamento das atividades é indispensável um estudo prévio das normas correspondentes ao trabalho prático a ser efetuado no laboratório.

II - TRABALHO NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA:

CONCEITOS GERAIS:

O primeiro dever de uma pessoa que trabalha em um laboratório de Microbiologia é adquirir a consciência do “invisível” e recordar que, constantemente, em todas as partes, existem numerosos organismos, a menos que se tenha tomado medidas para eliminá-los.

Existem microrganismos inócuos e microrganismos patogênicos. Para que esses microrganismos não contaminem o material de trabalho e não venham a constituir risco para as pessoas saudáveis ou enfermas, foram desenvolvidas diversas técnicas para sua destruição (físicas, químicas ou biológicas), sendo indispensável adotar certas normas a cada vez em que se trabalhe no laboratório.

A – AMBIENTE DE TRABALHO:

- a) Iluminação: o local deve ser bem iluminado, sem projeção de sombras, e essa luz pode ser natural ou artificial. No caso de se adotar uma iluminação artificial, esta não deve modificar a coloração dos meios de cultura, das colônias etc.
- b) Bancada: deve ser constituída de material liso, impermeável, não combustível e resistente a substâncias ácidas e básicas.
- c) Assentos: o ideal é que a pessoa trabalhe sentada, devendo o assento ser cômodo e ter a altura suficiente para apoiar os cotovelos sobre a bancada, tornando desta forma o trabalho mais seguro.

B – MATERIAIS BÁSICOS:

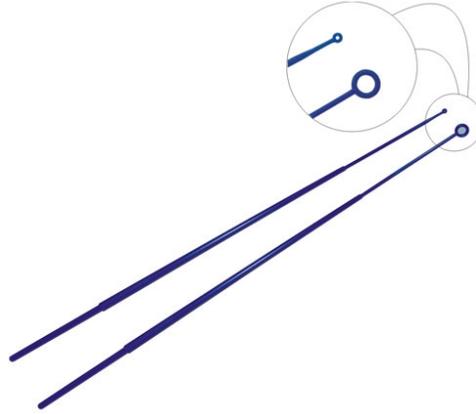
a) Placa de Petri: é uma placa circular de vidro (ou plástico descartável) que é composta de uma base e de uma tampa de superfícies planas. Nesta placa são adicionados os meios de cultura sólidos onde ocorrerá o desenvolvimento dos microrganismos.



b) Pipetas Pasteur: são preparadas a partir de um tubo de vidro em diferentes diâmetros (2 até 8 mm). Num dos extremos deve haver algodão hidrófobo, sendo o outro extremo estirado e fechado na chama. Também são comercializadas pipetas Pasteur de material plástico, descartáveis.



c) Alça de platina: possui um cabo onde se acopla um fio de platina ou níquel-cromo. Quando o fio de platina termina no formato de um anel, recebe o nome de “alça”. Se for achatado é chamado de “espátula” e no caso de ser reto, denomina-se “agulha”.



Além do material especificado anteriormente, no trabalho bacteriológico se empregam outros materiais de uso corrente em laboratórios.

MICROSCOPIA

Os avanços na área de Microbiologia estão diretamente relacionados ao desenvolvimento da microscopia. Ainda que existam diferentes tipos de microscópios, o mais utilizado é o de campo claro. Este utiliza a luz branca como fonte de iluminação, cujo feixe passa diretamente através do objeto que se deseja observar.

O microscópio é constituído por uma parte mecânica e outra óptica.

PARTE MECÂNICA:

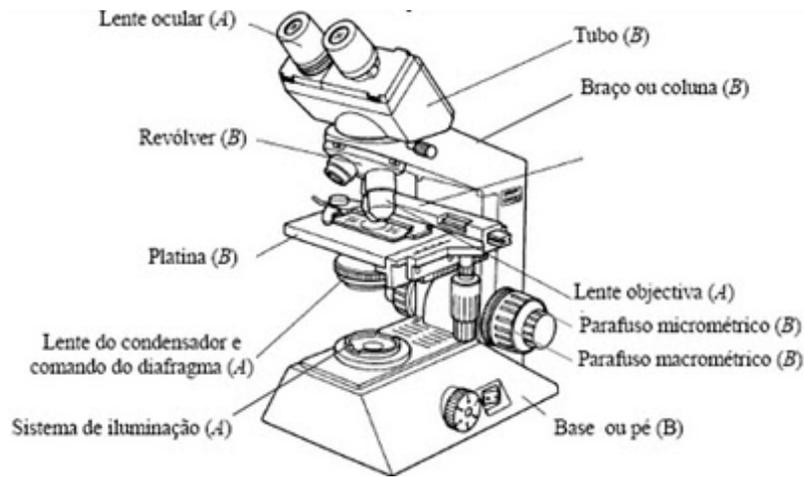
Base: sustenta o microscópio e permite manter a sua estabilidade.

Coluna ou braço: corresponde à parte do microscópio na qual se encontram as lentes oculares e objetivas, além do condensador e do sistema de foco com os parafusos macro e micrométricos.

Mesa ou Platina: é uma peça horizontal, com um orifício em sua parte central, que permite a passagem dos raios luminosos, onde se fixa a preparação a observar. Esta peça possui um “carro” que permite deslocar a preparação para melhor observação. Abaixo da platina, encontra-se o condensador.

Tubo ou canhão: é um cilindro metálico com interior escuro para evitar a reflexão de luz. O tubo suporta a lente ocular na extremidade superior e, na porção inferior, possui uma peça denominada “revólver”, que é uma peça giratória portadora de objetivas de diferentes ampliações, podendo ser objetivas de 10x, 40x, 100x e, em alguns, 4x.

Sistema de foco: composto pelos parafusos macro e micrométricos, que permitem distanciar ou aproximar o canhão à platina, com o objetivo de procurar o ponto de foco. O parafuso macrométrico permite um movimento rápido e o micrométrico permite um ajuste suave e preciso.



PARTE ÓPTICA:

Fonte luminosa: nos microscópios utilizados atualmente, a fonte luminosa já está incluída como parte do mecanismo. O objetivo da fonte luminosa é produzir um cone de luz homogêneo e amplo.

A maioria dos microscópios utiliza luz gerada por filamentos de tungstênio que produzem uma luz de comprimento de ondas do espectro visível. Além disso, utilizando um filtro azul, é produzida uma luz de comprimento de onda menor, que permite aumentar o poder de resolução do microscópio.

Em óptica, **poder de resolução** refere-se à capacidade que as lentes têm de discriminar entre objetos próximos. Quanto maior o poder de resolução, maior será a capacidade do microscópio em mostrar detalhes do objeto observado.

O poder de resolução depende do comprimento de onda da luz e da abertura numérica. O comprimento de onda da luz visível é fixada dentro de certos limites, e para aumentar o poder de resolução, precisa-se modificar a abertura numérica. A abertura numérica é a medida do ângulo do máximo do cone de luz que entra nas lentes da objetiva e corresponde ao número que aparece nas lentes objetivas após o aumento (4/0.1 -10/0.25 40/0.65 -100/1.25). O máximo poder de resolução do microscópio óptico utilizando a objetiva de imersão é ao redor de 0,2µm. A seguinte fórmula é utilizada:

$$R = \frac{L}{2 A N}$$

R = poder de resolução.

A N = abertura numérica (cada objetiva traz gravado esse valor).

L = comprimento de onda.

Exemplo: o poder de resolução do microscópio, utilizando uma objetiva de imersão será (A N = 1,25)

$$R = L / 2 A N$$

$$R = 0,5 / 2 \cdot 1,25 = 0,2 \mu\text{m}$$

Ou seja, esta objetiva possui a capacidade de formar imagens independentes que se encontram separadas entre si, na preparação, por uma distância de 0,2 μm .

Diafragma: permite regular o feixe luminoso, aumentando ou diminuindo o mesmo.

Condensador: corresponde a um sistema de lentes que está colocado abaixo do orifício central da platina e cuja função é condensar os raios luminosos na preparação. Modificações no condensador permitem transformar o microscópio de campo claro em microscópio de campo escuro ou no de contraste de fase.

Ocular: é constituída por duas lentes; a superior ou ocular propriamente dita, de tamanho menor, e a inferior, de tamanho maior, chamada de lente de campo. Sempre levam anotado o aumento que produzem (8x, 10x, 12,5x).

Objetivas: estas lentes, no geral, correspondem aos aumentos 10 e 40 de microscopia seca, ou seja, existe ar entre a preparação e a lente; e 100 de microscopia de imersão, na qual se utiliza óleo de imersão, entre a preparação e a objetiva. A amplificação total do microscópio é obtida multiplicando-se a amplificação da ocular pela amplificação da objetiva que se está utilizando.

Em Microbiologia, a objetiva mais utilizada é a de imersão, cujo aumento é de 100 vezes, de modo que, se a ocular tem um aumento 10x, estaremos amplificando 1000 vezes o diâmetro do observado. Neste tipo de microscopia, coloca-se uma gota de óleo de imersão sobre a lâmina onde está a preparação, de modo que a objetiva fique em contato com esse óleo. O objetivo disso é fazer o feixe de luz, depois que atravessa a preparação, passar através do óleo e não do ar, como ocorre no caso das objetivas secas de 10 e 40, evitando assim a refração dos raios luminosos.

CUIDADOS COM O MICROSCÓPIO:

A extraordinária precisão, tanto do sistema óptico como do sistema mecânico do microscópio, exige uma série de cuidados que se deve ter após cada observação.

A poeira é a maior inimiga do microscópio e ao acumular-se no sistema de foco, faz com que o instrumento perca sua precisão. Nas peças ópticas, a poeira prejudica a qualidade da imagem.

O óleo de imersão, as impressões digitais e outras impurezas acumuladas na lente frontal da objetiva prejudicam a nitidez da imagem, que aparece borrada e com pouco contraste.

Pelas razões anteriormente descritas, cuidados como: evitar o acúmulo de poeira, óleo de imersão, entre outros, são fundamentais. Para eliminar a poeira e o óleo do sistema óptico, este deve ser limpo utilizando-se um pano seco que não desprenda pêlos ou ainda um pano umedecido em solvente (xilol, álcool, éter, etc.).

A parte mecânica deve ser limpa utilizando-se um pano que não desprenda restos.

Uma vez terminada a jornada de trabalho e após o procedimento de limpeza do microscópio, este deve ser guardado coberto com plástico apropriado, sendo assim protegido de sujidades.

AULA PRÁTICA Nº 1

OBSERVAÇÃO DOS MICRORGANISMOS COLORAÇÃO DE GRAM: OBSERVAÇÃO DE BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS E GRAM-NEGATIVAS

A observação microscópica tem por objetivo determinar a morfologia e o agrupamento dos microrganismos, as suas características de tintura, além de outras características tais como: movimento, tipo de flagelo, presença de cápsula, esporo etc.

O exame microscópico pode ser realizado a partir de uma amostra (exame direto) ou a partir de cultivo. De acordo com a sua preparação, classificam-se em:

I – EXAME A FRESCO: microrganismos vivos.

- a) Sem coloração;
- b) Com coloração vital.

II – ESFREGAÇO FIXADO: microrganismos mortos.

- a) Com coloração simples;
- b) Com coloração composta.

EXAME MICROSCÓPICO A FRESCO:

O exame microscópico a fresco é utilizado, principalmente, para a observação de motilidade em bactérias. No caso de microrganismos de maior tamanho, como fungos e protozoários, esta técnica permite determinar, além disso, as características morfológicas.

No exame microscópico a fresco, realiza-se uma preparação úmida entre lâmina e lamínula. Exemplificando, se o material a ser examinado é sólido, como colônias de bactérias, suspender em gotas de soro fisiológico. Entretanto, no caso do material ser úmido, como amostra de caldo de cultivo, deposita-se diretamente, com pipeta Pasteur, sobre a lâmina. Deve-se tomar cuidado para que não ocorra formação de bolhas entre a lâmina e a lamínula. Se o exame a fresco for realizado com coloração vital, deve ser agregada à suspensão inicial uma pequena quantidade de algum corante vital como o azul de metileno, pois este permitirá aumentar o contraste dos microrganismos, facilitando assim sua observação.

Também existe um tipo de exame a fresco que se realiza em “gota pendente” utilizando uma lâmina escavada.

Quando se deseja determinar, através desse tipo de observação, se uma bactéria é móvel, há que se ter em mente que as bactérias, por possuírem cargas negativas em sua superfície externa, estão em constante repulsão. Isto determina um movimento de tipo vibratório, conhecido como movimento browniano. Também podemos observar os movimentos de correntes de líquidos, principalmente, em preparações recentes, nas quais todo o observado se move em um mesmo sentido. As bactérias móveis apresentam, em um mesmo campo microscópico, movimentos em zig-zag, com mudanças de direção ou girando sobre si mesmas, o que permite diferenciá-los dos tipos de movimentos citados anteriormente.

EXAME MICROSCÓPICO DE ESFREGAÇO FIXADO E CORADO:

Este método permite observar com maior precisão detalhes morfológicos e de agrupamento dos microrganismos.

Para o preparo do esfregaço, realiza-se uma suspensão do microrganismo em água, se o mesmo for proveniente de um meio sólido, mas em se tratando de um líquido, deposita-se uma pequena quantidade sobre uma lâmina, com o auxílio de uma alça de cultivo ou de uma pipeta Pasteur. A suspensão deve ser levemente opaca, já que um esfregaço muito denso não permitiria individualizar os microrganismos, o que dificultaria sua observação.

A fixação é realizada colocando-se a lâmina com a preparação a cerca de 15 cm acima da chama de um bico de Bunsen, para que ocorra a desidratação e a conseqüente aderência dos microrganismos à lâmina. Uma alternativa seria deixar a lâmina secar à temperatura ambiente e, em seguida, fixá-la, cobrindo-a com metanol, álcool-éter ou outro composto. Uma vez realizada esta etapa, o esfregaço está pronto para ser corado.

A coloração simples consiste na aplicação de um corante apenas, enquanto que as colorações compostas são realizadas utilizando-se pelo menos dois corantes, um fixador e um descorante, permitindo determinar diferentes comportamentos da bactéria frente à coloração.

Corantes: geralmente, os são sais de anilina. Os corantes básicos consistem em um cátion colorido unido a um ânion incolor. Os corantes ácidos consistem em um ânion colorido unido a um cátion incolor.

Os corantes mais utilizados em microbiologia são básicos, devido às características das células bacterianas, que são ricas em ácidos nucleicos com cargas negativas. Os cátions coloridos do corante se combinam com os ácidos, corando a célula. Os corantes ácidos não coram a bactéria, apenas coram o meio que a rodeia.

Fixador: é toda substância que forma compostos insolúveis com os corantes, o que permite a fixação destes à célula (lugol-fenol).

Descorantes: são substâncias químicas que permitem o descoramento de algumas bactérias e de outras não, evidenciando assim, certas características de sua estrutura (gram-positivo, gram-negativo, álcool-ácido resistente, etc.). Como exemplo de descorantes, temos a álcool-éter, álcool-clorídrico...

COLORAÇÕES COMPOSTAS UTILIZADAS EM MICROBIOLOGIA:

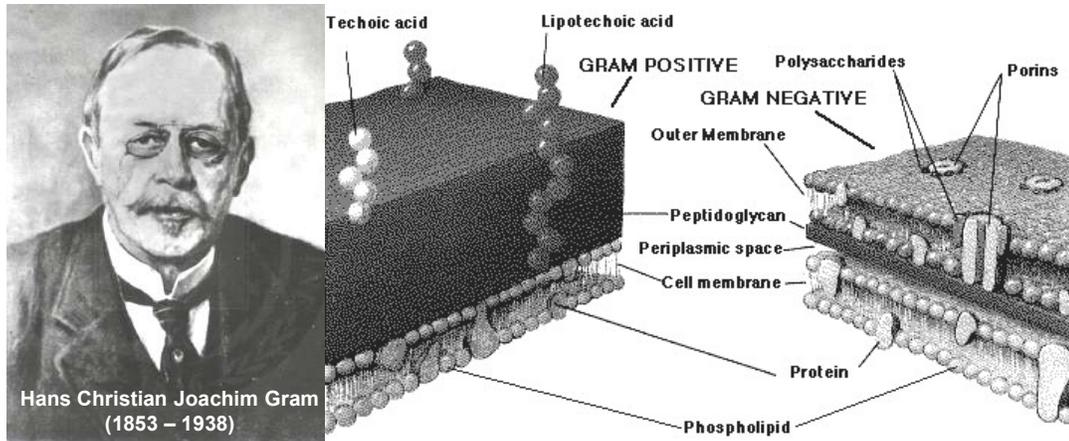
COLORAÇÃO DE GRAM: esta coloração permite diferenciar as bactérias em Gram positivas e Gram negativas, segundo as características da parede celular.

A coloração de Gram foi desenvolvida em 1884, pelo bacteriologista dinamarquês **Hans Christian Gram**. Esta coloração continua entre as mais importantes na rotina do laboratório de Microbiologia. Ela permite dividir as bactérias em dois grupos: **gram-positivas** e **gram-negativas**. Possibilita, ainda, a visualização da morfologia da célula bacteriana (**cocos** ou **bacilos**) e dos **arranjos** entre as células (isoladas, em cachos, em cadeias). As bactérias **gram-positivas** possuem, na parede celular, uma camada de peptidoglicano mais espessa do que as bactérias **gram-negativas**.

Quando aplicado em células **gram-positivas** e **gram-negativas**, o corante **crystal violeta** (violeta de genciana) e o iodo (**lugol**) penetram facilmente, porém, dentro das células, eles se combinam para formar o complexo cristal violeta-lugol.

Nas bactérias **gram-positivas**, por causa da maior quantidade de peptidoglicano, o complexo iodo-cristal violeta não é removido facilmente pelo tratamento com álcool e, assim, estas células mantêm a cor **roxa**.

Nas células **gram-negativas**, o álcool penetra a membrana externa e o complexo violeta-lugol é removido da camada fina de peptidoglicano. Estas células são, em seguida, coradas pelo segundo corante (corante de contraste ou de fundo), a **fucsina** ou safranina, adquirindo a coloração **rosa**.



Atividade Prática:

Cada aluno realizará uma coloração de GRAM a partir de esfregaços realizados a partir de amostras coletadas de diferentes locais (orofaringe, celular, dinheiro, sapato etc) “swab estéril”, fazendo um esfregaço em lamina de vidro, fixando e corando.

Adicionalmente, cada grupo deverá observar esfregaços fixados e corados que ficaram disponíveis nos microscópios (aumento 100x)

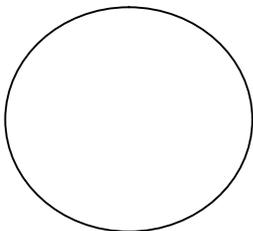
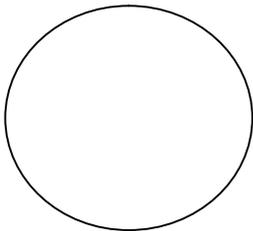
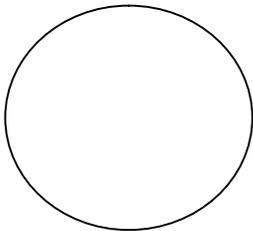
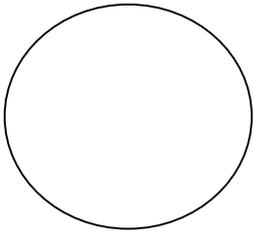
Técnica: fazer um esfregaço com as bactérias que se desejam corar (ou com a amostra).

- Cobrir o esfregaço com violeta de genciana, violeta de metil ou cristal violeta por 1 minuto;
 - Lavar;
 - Cobrir com lugol (fixador) por 1 minuto;
 - Lavar;
 - Descorar com álcool-éter e lavar imediatamente;
 - Cobrir a lâmina com safranina (ou fucsina) por 10 segundos;
 - Lavar novamente em água corrente;
 - Secar a lâmina, pressionando-a levemente entre duas folhas de papel de filtro, com o cuidado para não remover o esfregaço corado;
 - Observar ao microscópio, com objetiva de imersão (objetiva 100X);
- Obs.: após a coloração, cuidado para não inverter a face da lâmina com as bactérias;
- O condensador do microscópio deve estar elevado;
 - A focalização deve ser realizada com cuidado e paciência, iniciando-se com aumento 10X.

Esta coloração é fundamentada no fato de que a mistura álcool-éter dissolve os lipídios da membrana externa das bactérias Gram negativas, que se descoram, corando-se posteriormente com a safranina (ou fucsina).

Interpretação: as bactérias gram-positivas retêm o cristal violeta, corando-se de violeta escuro. As bactérias Gram negativas apresentam-se com coloração rosada.

OBSERVAÇÃO E ANOTAÇÃO DOS RESULTADOS (DESENHAR):

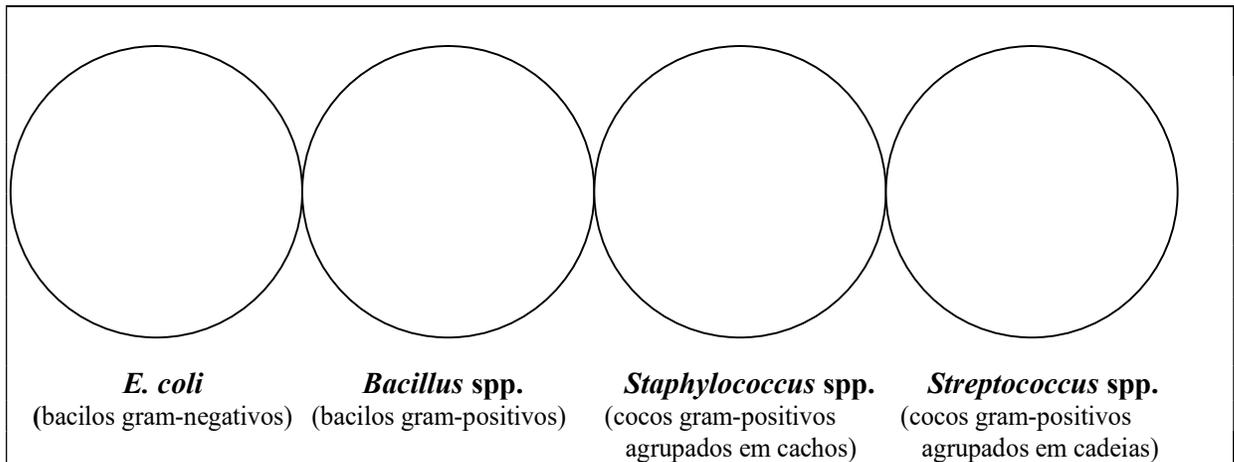


Bactéria (espécie)	Descrição microscópica
<i>Staphylococcus aureus</i>	
<i>Streptococcus spp.</i>	
<i>Escherichia coli</i>	
<i>Bacillus spp.</i>	

QUESTÕES PARA RELATÓRIO

1. Descreva a estrutura e composição das paredes das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas

2. Desenhe cada tipo de bactéria visualizada na aula prática:



3. Comente a importância da coloração do Gram para Microbiologia Veterinária.

AULA PRÁTICA Nº 2

CULTURA PURA E ISOLAMENTO BACTERIANO EM MEIOS LÍQUIDOS E SÓLIDOS

NUTRIÇÃO E CRESCIMENTO DOS MICRORGANISMOS

Os microrganismos, como outra qualquer célula, necessitam de substâncias ou nutrientes para viver e se multiplicar. Quando os requerimentos nutritivos são proporcionados por um organismo vivo, este é denominado HOSPEDEIRO. Se os nutrientes são obtidos por um meio artificial, denomina-se MEIO DE CULTURA.

Os requerimentos nutricionais variam de um organismo para o outro e são determinados, em parte, por sua constituição genética e também por fatores ambientais.

Os principais elementos da célula são: H₂, O₂, (85% na forma de H₂O), C, N, S e P. Além disso, necessitam de oligoelementos como: Na, K, Ca, Mg, Fé, Zn, Cu, Co, etc.

Deve ser considerada também uma série de reações químicas (metabolismo), que permitirão à célula incorporar estes elementos, já que na natureza encontram-se como “compostos”. Estas trocas químicas podem ser de dois tipos:

- **Catabolismo:** degradação ou decomposição de um substrato com a finalidade de se obter material para a célula e para a obtenção de energia.
- **Anabolismo:** elaboração ou síntese de compostos.

CULTIVO DOS MICRORGANISMOS

Para poder estudar os microrganismos é necessário que estes existam em quantidade suficiente, quantidade esta que, geralmente, não é encontrada em seu habitat natural. Para que esse objetivo seja alcançado, utiliza-se o cultivo microbiológico.

Cultivar um microrganismo significa proporcionar-lhe, em um meio de cultura, todos os nutrientes dos quais ele necessita para poder multiplicar-se, além de condições ambientais adequadas.

Um meio de cultura adequado necessita de:

1. Fonte de energia (que é obtida por fermentação, respiração ou fotossíntese);
2. Fonte de carbono;
3. Fonte de nitrogênio;
4. Fonte de enxofre;
5. Fonte de fósforo;
6. Fonte de minerais (Mg, Fe, K, Mn, Mo, Co, Cu, Zn);
7. Fatores de crescimento: são compostos orgânicos dos quais a célula necessita, mas que não é capaz de sintetizar (aa, vitaminas, purinas, pirimidinas, etc.);
8. Fatores ambientais:

a) **pH:** a grande maioria das bactérias desenvolve-se em pH neutro, todavia, existem microrganismos acidófilos e outros que preferem um pH alcalino;

b) **Temperatura:** segundo a temperatura ótima de desenvolvimento, temos microrganismos:

- psicrófilos: 15 a 20°C;
- mesófilos: 30 a 37°C;
- termófilos: 50 a 60°C.

c) **Atmosfera:** segundo o requerimento de O₂, os microrganismos classificam-se em:

- aeróbios estritos: requerem O₂ atmosférico;
- anaeróbios facultativos: requerem, ou não, O₂ atmosférico;
- anaeróbios obrigatórios: não requerem O₂ atmosférico;
- microaerófilos: requerem concentrações menores de O₂ (<21%);
- capnofílicas: requerem concentrações maiores de CO₂.

A microaerofilia pode ser estrita (5% de O₂), a qual é obtida com geradores de CO₂, ou parcial (12 – 17% de O₂), obtida em uma jarra de vela.

Atmosfera normal: 21% O₂; < 0,5% CO₂;

Atmosfera anaeróbica: 10% H₂; 85% N₂, 5% CO₂;

Atmosfera microaerófila estrita: 5% O₂; 85% N₂, 10% CO₂;

Atmosfera microaerófila parcial (vela) (MO capnofílicas): 12 – 17% O₂; 5% CO₂.

Existem diferentes técnicas para o cultivo de microrganismos anaeróbios obrigatórios, sendo a mais utilizada a jarra anaeróbica que utiliza substâncias químicas que, ao agregar-lhes água, liberam CO₂ e hidrogênio, este último, em presença de um catalizador (paládio), une-se ao O₂ contido na jarra e forma H₂O. Outro sistema é baseado em ácido ascórbico e carvão ativado.

d) **Pressão osmótica e forças iônicas:** existem alguns organismos, como os marinhos, que estão adaptados a crescer em ambientes com altas concentrações de sal (halófitas).

e) **Tempo de incubação:** o tempo de incubação varia segundo a espécie que se deseja isolar. A grande maioria das espécies de interesse clínico humano necessita um período de incubação entre 18 a 48h. Todavia, há exceções como no caso de *Leptospiras*, *Mycobacterium*, *Mycoplasma*, etc.

f) **Esterilidade:** o cultivo dos microrganismos utiliza-se com os seguintes propósitos:

- isolar microrganismos a partir de diferentes produtos (água, leite, alimentos, produtos patológicos);
- multiplicação de uma determinada espécie;
- identificação de um microrganismo através da determinação dos produtos;

Para que os objetivos sejam alcançados é imprescindível que todo o material empregado esteja estéril, ou seja, livre de todo tipo de microrganismo.

CLASSIFICAÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA

Os meios de cultura são preparados estéreis que contém todos os nutrientes e elementos necessários para o desenvolvimento microbiano.

Classificam-se, segundo seu estado físico, em:

- Líquidos;
- Semi-sólidos;
- Sólidos.

Para transformar um meio líquido em semi-sólido ou sólido, utiliza-se uma substância denominada ágar-ágar. Esta é um polissacarídeo ácido obtido de algas marinhas, possui a

propriedade de não ser tóxico e são poucas as bactérias capazes de destruí-lo. Funde-se a 100°C, permanecendo em estado líquido a temperaturas de 45 a 50°C. a 37°C e, à temperatura ambiente, mantém-se em estado sólido. É utilizado na proporção de 1,5 a 2%, quando a finalidade for a obtenção de um meio sólido.

Classificam-se, segundo os nutrientes, em:

- Meios sintéticos: meios compostos somente por substâncias químicas conhecidas;
- Meios complexos: meios que, além dos compostos químicos conhecidos, contêm substâncias como hidrolisados protéicos, extrato de carne ou levedura (meio complexo simples). Ex.: caldo comum, ágar peptona;
Se a um meio complexo simples é adicionado soro, plasma, líquido ascítico ou sangue, obtém-se um meio complexo enriquecido ou melhorado. Ex.: ágar peptona + 10% de sangue = ágar sangue.

TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS DE SEMEADURA E OBTENÇÃO DE CULTURAS PURAS

A semeadura microbiológica é um procedimento, mediante o qual se deposita (semeia-se), assepticamente, um microrganismo em um meio de cultura. Neste meio de cultura, os microrganismos multiplicar-se-ão produzindo milhões de descendentes que formarão unidades macroscopicamente visíveis, denominadas **colônias**.

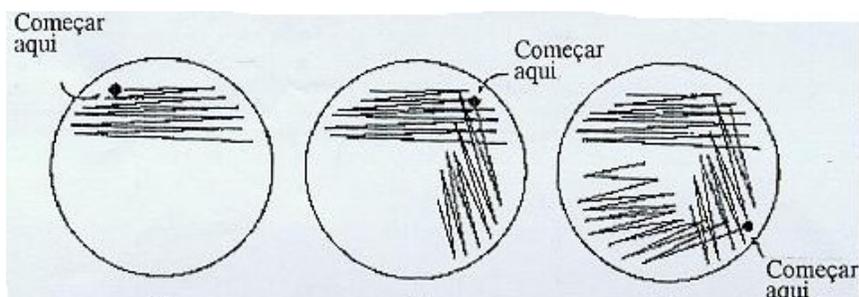
O material que contém os microrganismos que serão semeados recebe o nome de **inóculo** e este procedimento é realizado utilizando-se uma **alça de cultivo** ou uma pipeta.

Para realizar a semeadura, deve-se considerar o estado físico do meio de cultura. As semeaduras podem ser realizadas de:

- meio sólido para meio líquido;
- meio sólido para meio sólido;
- meio líquido para meio líquido;
- meio líquido para meio sólido.

- **Cultivo puro**: é aquele que contém somente um tipo de microrganismo e que se originou a partir de uma única célula.
- **Semeadura por estria ou disseminação (esgotamento)**: consiste em passar a alça de cultivo contendo o inóculo sobre a superfície de uma placa de Petri, à qual contém o meio de cultura adequado para a bactéria que se deseja isolar. Ao passar a alça, fazendo estrias separadas umas das outras, objetiva-se que o inóculo seja diluído progressivamente de forma tal que, ao final das estrias, obtenha-se colônias isoladas.

- ✓ Semeadura por esgotamento:



- **Semeadura por diluição:** a uma mistura de microrganismos faz-se uma diluição seriada e, de cada diluição, realiza-se uma semeadura em placa. Apresenta uma grande desvantagem, que é o isolamento do microrganismo predominante na amostra.

Outros métodos de obtenção de culturas puras são:

- Semeadura por difusão em ágar fundido;
- Incubação em temperaturas elevadas ($\geq 42^{\circ}\text{C}$);
- Adição de substâncias químicas inibitórias (ex. antibióticos);
- Cultivos por enriquecimento.

TIPOS DE DESENVOLVIMENTO BACTERIANO

Os meios de cultura semeados são incubados a uma temperatura e requerimentos de O_2 próprios para cada microrganismo.

A forma de evidenciar o desenvolvimento microbiano nos meios líquidos é através da presença de:

- a) Turbidez uniforme;
- b) Sedimento;
- c) Floculação ou grânulos;
- d) Películas;
- e) Formação de gás;
- f) Viragem se solução indicadora de pH.

Em meios sólidos o crescimento bacteriano se evidencia pela formação de colônias, que podem apresentar, entre outras, as seguintes características:

1. Tamanho:

- a) puntiforme ($< 0,5 \text{ mm}$);
- b) de maior tamanho (expresso em mm).

2. Forma:

- a) Circular;
- b) Irregular;
- c) Rizóide;
- d) Filamentosa.

3. Superfície:

- a) Plana;
- b) Meseta;
- c) Convexa;
- d) Mamelonada (forma de “mamilo”);
- e) Côncava.

4. Consistência:

- a) Seca ou opaca;
- b) Úmida ou brilhante;
- c) Consistente (consistência similar a manteiga);

- d) Mucosa (quando tocada com alça forma um filamento);
- e) Quebradiça (crescimento seco, porém quebradiço, como esperma);
- f) Membranosa (difícil de suspender em água).

5. Pigmento:

Além das características mencionadas anteriormente, as colônias podem ou não apresentar pigmento, o qual pode estar circunscrito na colônia (endopigmento) ou pode estar difundido no meio (exopigmento).

6. Odor:

Algumas bactérias apresentam odor característico: amoniacal, fecaloídeo, adocicado etc.

7. Hemólise:

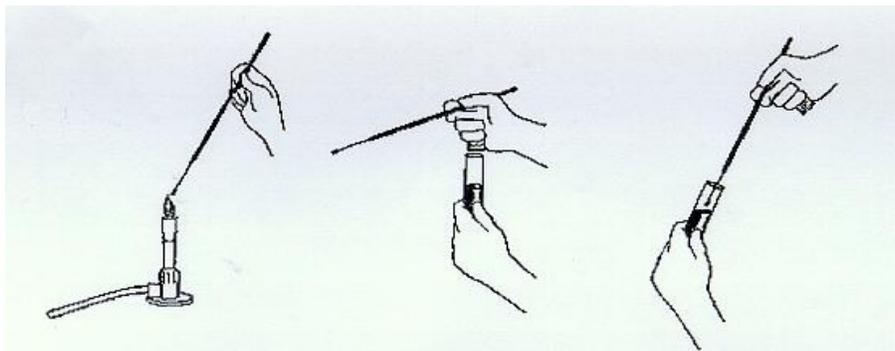
Quando se semeia em ágar-sangue, as bactérias podem destruir os glóbulos vermelhos produzindo hemólise. Segundo esta característica, as bactérias podem ser:

- a) Gama-hemolíticas: não destroem glóbulos vermelhos;
- b) Alfa-hemolíticas: destruição parcial dos glóbulos vermelhos com formação de meta-hemólise que se evidencia por uma coloração esverdeada ao redor da colônia;
- c) Beta-hemólise: destruição total dos glóbulos vermelhos que se evidencia pela transparência do meio ao redor da colônia.

Atividade Prática: Cultura pura e isolamento bacteriano em meios líquidos e sólidos

Técnica:

1. A alça de “platina” deve ser **flambada** antes e depois de qualquer procedimento de semeadura. Para tanto, o cabo deve ser exposto à chama de 2 a 3 vezes e a alça deve ser aquecida ao rubro. A posição correta para a flambagem da alça é que a mesma faça um ângulo de 45° em relação à mesa de trabalho;



2. Antes de retirar o material para a elaboração do esfregaço ou para semeadura, deve-se esfriar a alça na parede interna do tubo ou na tampa da placa de Petri;

3. Para a semeadura em tubos de ensaio, deve-se flambar rapidamente a boca dos mesmos logo após a retirada do tampão de algodão ou tampa rosqueada. Este deverá ser segurado pelo dedo mínimo da mão que está segurando a alça. Após a retirada do material com a alça, flambar novamente a boca do tubo e recolocar o tampão de algodão ou tampa. Flambar a alça após o uso;

4. As placas de Petri contendo meio sólido e os tubos contendo meio líquido deverão ser abertos próximos (máximo de “um palmo” de distancia) ao bico de Bunsen, para evitar contaminação, principalmente, das bactérias do ambiente. Depois de semeadas, as placas deverão ser incubadas em estufa com tampa voltada para baixo (emborcadas para evitar contaminação e ressecamento do meio).

Objetivo da atividade:

1) Realizar o isolamento de bactérias a partir de uma amostra aleatória (ambientes, pioderma, fezes, mão, celular, dinheiro, etc) em um meio de cultura sólido (placa petri contendo ágar nutriente estéril) de modo a obter colônias isoladas em cultura pura;

2) Realizar a coloração de Gram diretamente da amostra para fazer um diagnóstico presuntivo do provável agente bacteriano;

3) Isolar bactérias presentes na microbiota da mão e obter colônias isoladas em meio sólido ágar nutriente.

Material:

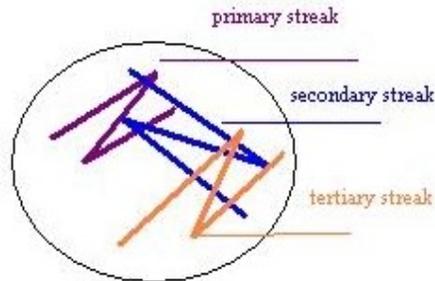
- 1 – Meio de transporte contendo swab estéril;
- 2 - Placa de Petri contendo meio de cultura sólido (ágar nutriente) estéril;
- 3 – Alça bacteriológica;
- 4 – Lâminas de vidro;
- 5 - Bateria de corantes da Coloração de Gram
- 6 – cotonete (*swab*) estéril
- 7 – Tubo com solução salina estéril
- 8 - Microscópio

Procedimento 1: Cultivo e isolamento de bactérias das amostras

a) Depositar a amostra contida no meio de transporte na superfície de uma placa de ágar nutriente;

b) Flambar a alça;

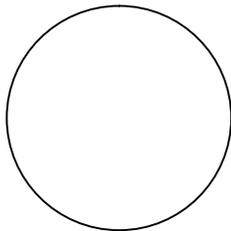
c) **Semear por esgotamento:** a partir de um ponto de inoculação, distribuir o material na placa, fazendo “estrias ou zig-zag” no restante da placa. Este procedimento “separa/espalha” bactérias e, quando crescem, produzem colônias isoladas.



j) Incubar a placa de ágar nutriente e o tubo com caldo nutriente a 37°C por 24 horas;

f) **Fixar a amostra em uma lâmina de vidro e realizar a coloração de Gram;**

h) **Desenhar a morfologia microscópica e coloração de Gram das bactérias observadas diretamente nas amostras;**



Morfologia:

Gram:

Procedimento 2: Cultivo de bactérias da Microbiota Humana

Objetivo: constatar a presença e a variedade de microrganismos da nossa microbiota normal das mãos. Verificar o crescimento e diferentes morfológicas microscópicas e macroscópicas das colônias isoladas em placas de petri contendo ágar nutriente estéril.

Material:

- Placa de Petri contendo meio de cultura sólido: 1 placa com ágar nutriente.

Procedimento:

1. Umedecer um cotonete (*swab* estéril) em um tubo contendo solução fisiológica estéril;
2. Coletar amostra das mãos (palmas e região interdigital) com o cotonete e fazer uma marca na superfície da placa contendo meio de cultura sólido (ágar nutriente);

3. A partir de um ponto de inoculação, distribuir o material na placa, fazendo “estrias ou zig-zag” no restante da placa. Incubar a placa a 37°C por 24 horas.

A LEITURA E INTERPRETAÇÃO DAS CULTURAS SERÃO REALIZADAS NA PRÓXIMA AULA. DEPOIS DESTA INTERPRETAÇÃO SERÁ POSSÍVEL REALIZAR O RELATÓRIO DE ATIVIDADES.

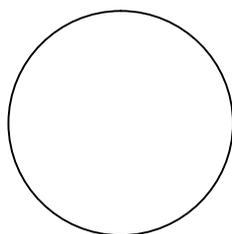
Leitura da aula prática anterior com Coloração de Gram das colônias

Amostras semeada e meio sólido, incubada a 37°C por 24h:

Descreva características das colônias isoladas no meio de cultura sólido e a morfologia microscópica e resultado da coloração de Gram das colônias crescidas em meio sólido.

- 1) Leitura da placa de ágar nutriente:

Características da colônia:

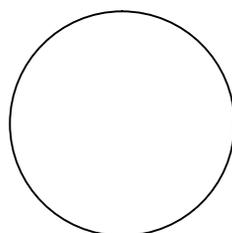


Morfologia microscópica:

Gram:

Cultura da amostra da mão semeada e meio sólido e incubada a 37°C por 24h:

- a) Tipo e número de colônias diferentes:
b) Morfologia microscópica e coloração de Gram da colônia predominante



Morfologia microscópica:

Gram:

QUESTÕES PARA RELATÓRIO

- 1. A amostra foi semeada em Meio líquido (caldo) e meio sólido (em placas de Petri). Quais as vantagens que oferecem estes dois tipos de cultivos?**
- 2. A morfologia microscópica e coloração de Gram feita diretamente da amostra, são a mesma que das colônias isoladas em meio sólido?**
- 3. É normal a presença de bactérias em partes do corpo humano como a mão?**
- 4. No caso que um Fisioterapeuta realize um procedimento em um paciente com fratura exposta, existe a probabilidade de que a bactéria da mão produza uma infecção neste paciente? Como poderia evitar a infecção?**

AULA PRÁTICA Nº 3

TRANSMISSÃO E DISSEMINAÇÃO DE MICROORGANISMOS

A infecção é uma condição na qual uma parte (infecção localizada), ou o corpo todo (infecção disseminada) é invadido por um agente infeccioso que, numa situação favorável, multiplica-se, causando dano às células do hospedeiro, com evidentes prejuízos para este. O organismo infectante ou patógeno interfere na fisiologia normal do hospedeiro e pode levar a diversas consequências.

A resposta do hospedeiro é a inflamação [amidalite, sufixo -ite (do grego itis ou ite) é inflamação, peritonite, otite, sinusite, uretrite, conjuntivite etc.].

Baseado no conceito de que todo lugar está colonizado por microrganismos, e que todo indivíduo apresenta uma microbiota normal, podemos deduzir que existem fontes endógenas e exógenas de infecção e que as infecções podem ser transmitidas por contato direto (mãos, portadores, aerossóis, secreções) e indireto [alimentos, fômites (ex. toalhas), artrópodes, vegetais, solo].

Material

Cada grupo receberá:

- Suspensão de leveduras do gênero *Saccharomyces* spp. (meio ágar nutriente);
- Placas estéreis com ágar nutriente;
- Solução salina;
- *Swab* estéril (cotonete).

Método

Transmissão direta:

- Todos os alunos devem lavar as mãos com água e sabão;
- O primeiro aluno de cada grupo irá espalhar nas mãos uma pequena quantidade da suspensão de *Saccharomyces* spp. Em seguida, irá tocar a mão de um segundo aluno que irá tocar a mão de um terceiro aluno, até completar a cadeia de alunos de cada grupo.
- Cada aluno irá tocar com o dedo no quadrante de uma placa de ágar nutriente, previamente identificada de 1 a 4 e 5 a 8, correspondente à sua ordem no CICLO DE TRANSMISSÃO.

Interrupção da Transmissão direta:

- Todos os alunos devem lavar as mãos com água e sabão;
- O primeiro aluno de cada grupo irá espalhar nas mãos uma pequena quantidade da suspensão de *Saccharomyces* spp. Em seguida, irá tocar a mão de um segundo aluno que irá tocar a de um terceiro aluno;
- O terceiro aluno irá lavar as mãos com água e sabão antes de tocar a mão do quarto aluno, dando continuidade à cadeia até completar todo o grupo de alunos de cada grupo;
- Cada aluno irá tocar com o dedo no quadrante da placa de TSA, previamente identificada de 1 a 4 e 5 a 8, correspondente à sua ordem no ciclo de transmissão.

INCUBAR AS PLACAS A 37°C POR 24 HORAS.

Transmissão Indireta:

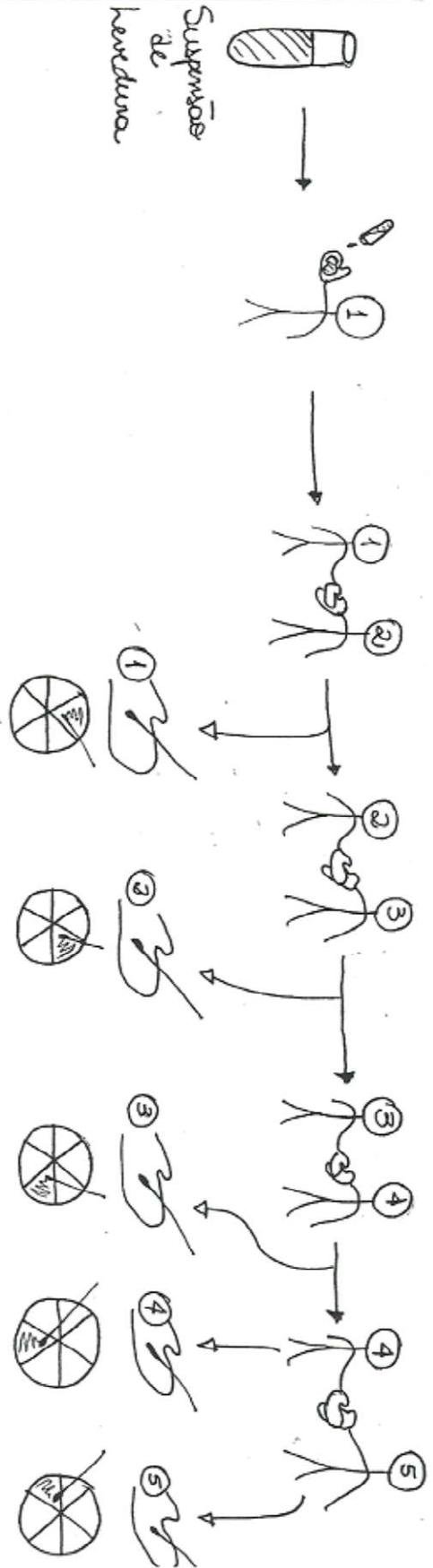
Um aluno de cada grupo irá umedecer o “swab” em solução salina estéril e encostará este na maçaneta da porta do laboratório para posteriormente inocular uma placa estéril de ágar nutriente para obter cultura pura por esgotamento.

QUESTÕES PARA RELATÓRIO

- 1. Qual é o efeito da lavagem das mãos na cadeia de transmissão de bactérias?**
- 2. Bactérias da microbiota humana poderiam produzir uma infecção em um paciente? Cite um exemplo e comente se seria uma transmissão direta e indireta.**
- 3. Que tipo de microorganismos podem ser transmitido por aerossóis e que tipo de infecção poderiam produzir.**
- 4. Que medidas poderiam ser utilizadas para eliminar a possibilidade de transmissão de bactérias por superfícies inanimadas (macas, estetoscópios etc)?**

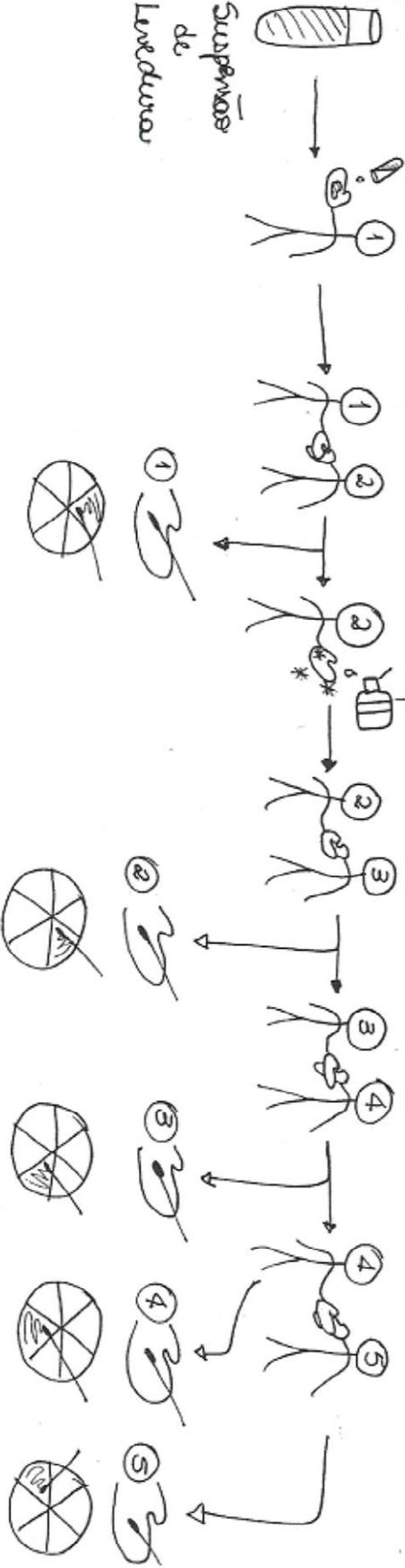
Atividade A - Contaminação Direta

A1. Experiência Controlada



TODOS: LAVAR AS MÃOS ANTES E DEPOIS DAS EXPERIÊNCIAS!!

A2. Experiência Teste



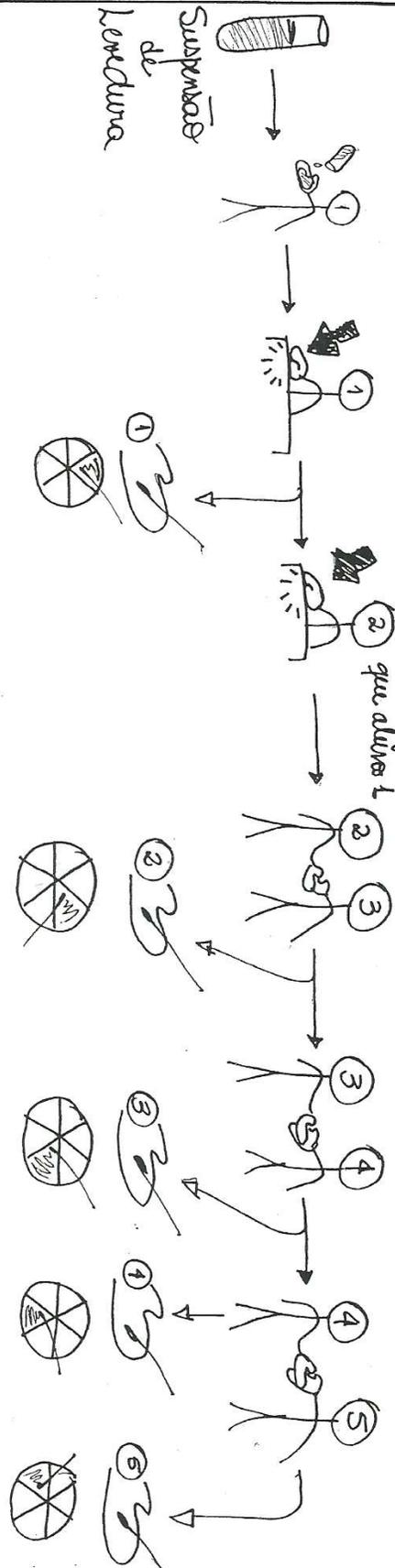
TODOS: LAVAR AS MÃOS!!

Gustavo Henrique

Atividade B - Contaminações Indiretas

B1. Experiência Controlada

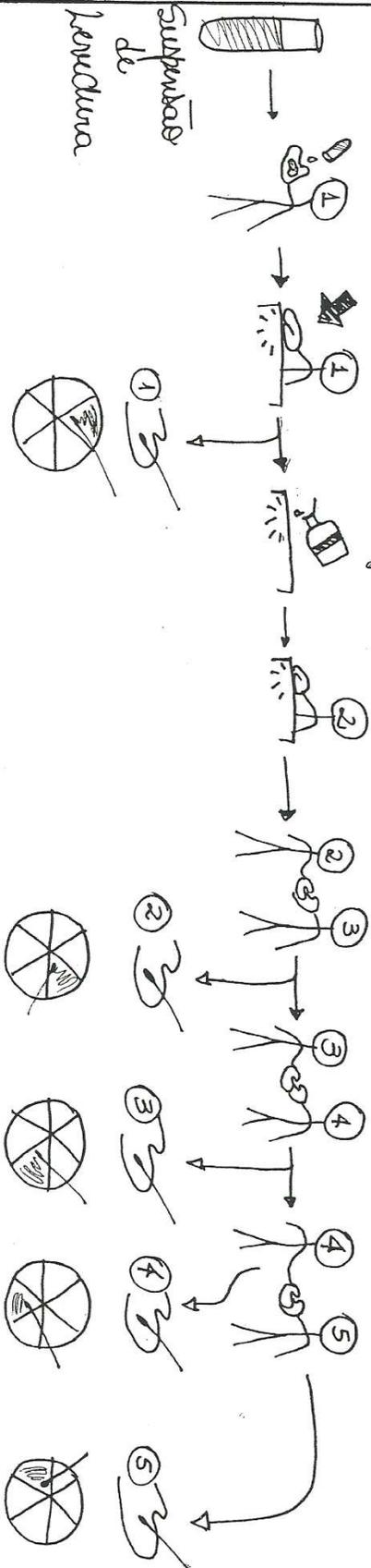
Aluno 2 libera a mão no mesmo lugar, Aluno 1



TODOS: LAVAR AS MÃOS ANTES E DEPOIS DAS EXPERIÊNCIAS!!

B2. Experiência Teste

Limpar a superfície com agente oxidante

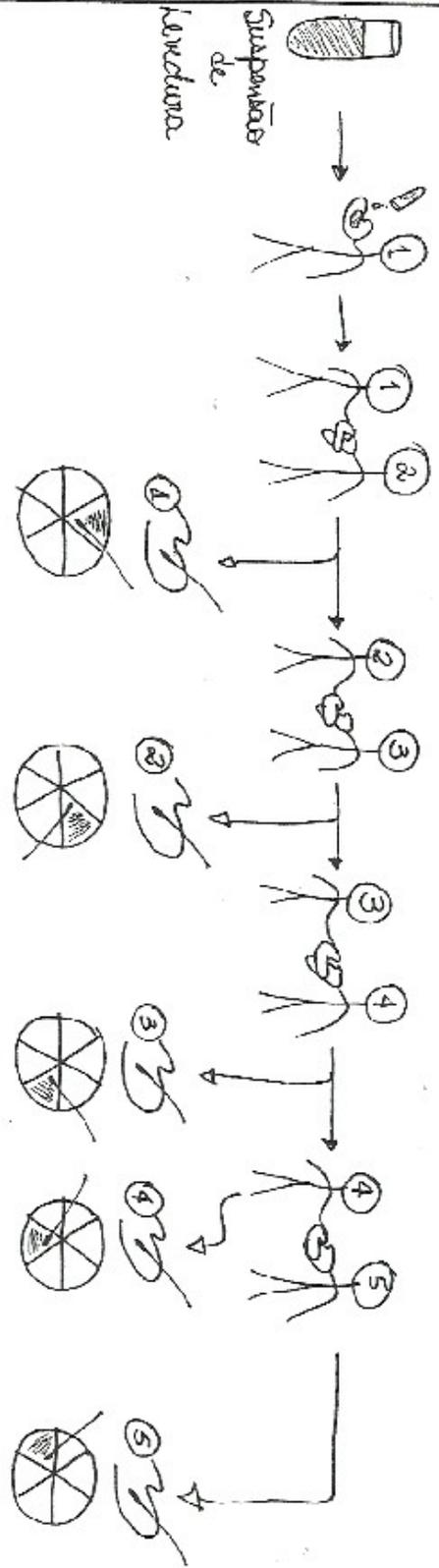


TODOS: LAVAR AS MÃOS

Cristiane Ferreira

Atividade C - Contaminação direta com remoção mecânica pela água

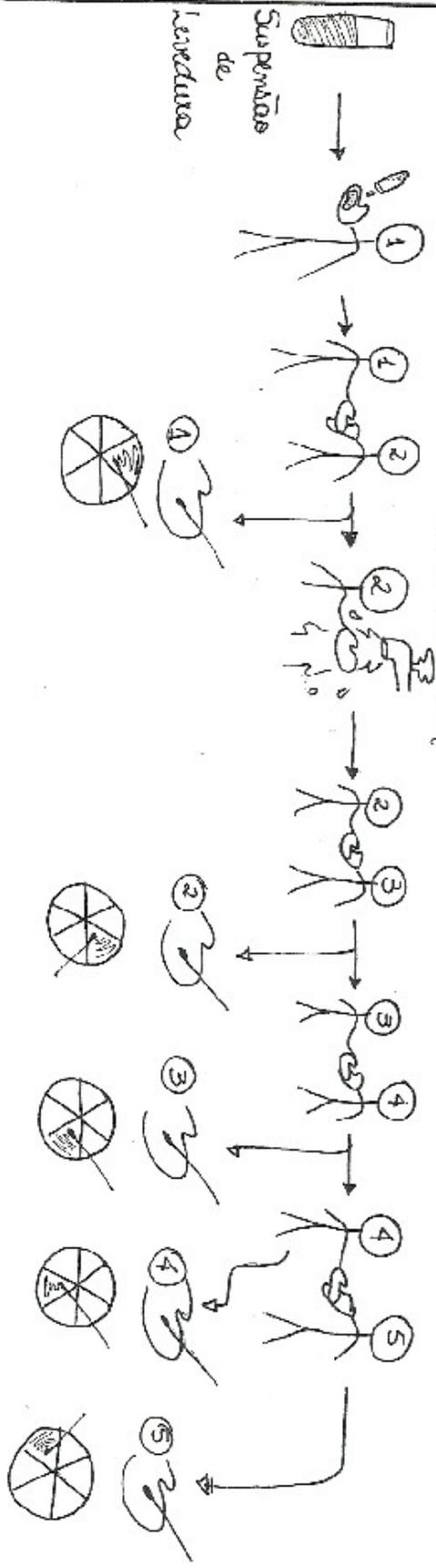
C1. Experiência Contida.



TODOS: LAVAR AS MÃOS ANTES E DEPOIS DAS EXPERIÊNCIAS!!

C2. Experiência Teste

Alinhar 2 larvas a mais lentamente com água



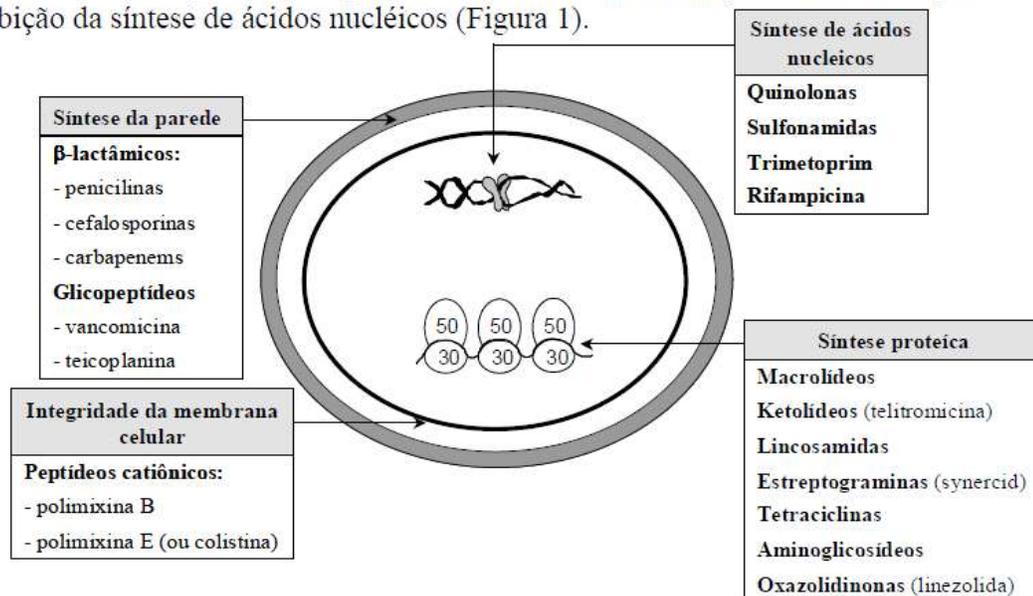
TODOS: LAVAR AS MÃOS!!

AULA PRÁTICA Nº 4 ANTIBIÓTICOS E QUIMIOTERÁPICOS

1. Introdução

Desde a sua descoberta, o uso de antibióticos mudou o conceito da prática médica, revolucionando o tratamento de infecções e fazendo com que doenças fatais virassem problemas de saúde controláveis. Infelizmente, a resistência bacteriana de importância médica surgiu logo após a introdução dos primeiros antibióticos e desde então tem aumentado gradualmente em todo o mundo afetando principalmente o ambiente hospitalar, e estendendo-se para a comunidade e o agronegócio ligado à criação e produção de animais, o que é de interesse para a Medicina Veterinária e Zootecnia.

Antibacterianos são definidos como compostos de baixo peso molecular, produzidos por bactéria e fungos (antibióticos), ou compostos sintéticos ou quimicamente modificados (quimioterápicos) que matam (bactericidas) ou inibem (bacteriostáticos) o crescimento de bactérias. Estruturalmente, são classificados como β -lactâmicos, aminoglicosídeos, quinolonas, macrolídeos, lincosamidas, tetraciclina, polimixinas, sulfonamidas, glicilciclina, oxazolidinonas, cetolídeos, glicopeptídeos, lipopeptídeos e estreptograminas. Segundo o espectro de atividade eles possuem um espectro restrito de atividade contra Gram negativos ou Gram positivos, ou um amplo espectro de atividade contra Gram positivos e Gram negativos. O mecanismo de ação, o qual pode produzir um efeito bacteriostático ou bactericida, é direcionado à inibição da síntese da parede bacteriana, alteração da integridade da membrana, inibição da síntese proteica, ou inibição da síntese de ácidos nucleicos (Figura 1).



Com a finalidade de praticar uma antibioticoterapia racional, surgiram os testes de suscetibilidade antibacteriana (ou Antibiograma), cujo objetivo é prever *in vitro* o que acontecerá *in vitro* quando um antibiótico seja administrado, na instauração de um esquema terapêutico, para o tratamento de doenças infecciosas. Atualmente, existem métodos qualitativos (i.e., método de difusão do disco ou Kirby-Bauer) que permitem diferenciar se uma bactéria é resistente ou sensível a um determinado antibiótico testado. Adicionalmente existem métodos quantitativos que permitem conhecer se uma bactéria é sensível ou resistente, mediante a de terminação da Concentração Inibitória Mínima

(CIM). Este valor infere quantitativamente sobre a concentração mínima necessária para inibir, *in vitro*, o crescimento macroscópico de uma espécie bacteriana. O valor da CIM é expressa em unidades de $\mu\text{g/mL}$ (ou mg/L) e permite, além de instaurar uma terapia baseada em dosagens apropriadas, monitorar a evolução da resistência de um agente bacteriano, durante o processo infeccioso. Com relação a isto, a instauração de uma antibioticoterapia se baseia em administrar uma concentração de antibiótico que permita obter uma concentração plasmática SEMPRE superior a CIM.

2. Objetivos

Interpretar um teste de suscetibilidade antibacteriana qualitativo (Antibiograma realizado pelo método de difusão do disco) e discernir sobre a escolha de cada antibiótico, tanto para a execução do teste, como para a escolha terapêutica.

3. Experimental

Cada grupo receberá:

1. Caldo nutriente inoculado com *Staphylococcus aureus*
2. Caldo nutriente inoculado com *Escherichia coli*
3. Placas de ágar **Mueller-Hinton**
4. Coletar amostra bacteriana com ajuda do “swab” estéril. Tirar o excesso de líquido pressionando o “swab” nas paredes do tubo.
5. Semear a superfície do ágar Mueller-Hinton (cobrindo a totalidade da superfície) com cada amostra bacteriana, utilizando o “swab” umedecido no inoculo bacteriano respectivo. Uma placa para *S. aureus* e uma placa para *E. coli*.
6. Deixar secar as placas por 5 minutos e depositar discos de antibióticos de diferentes classes estruturais (Penicilina, Eritromicina, Ac. Nalidixico, Ceftiofur, Enrofloxacina).
7. Identificar as placas e incubar (37°C por 24 horas).

A LEITURA E INTERPRETAÇÃO DOS ANTIBIOGRAMAS SERÃO REALIZADAS NA PRÓXIMA AULA. DEPOIS DESTA INTERPRETAÇÃO SERÁ POSSÍVEL REALIZAR O RELATÓRIO DE ATIVIDADES.

Leitura da aula prática anterior

Com o auxílio de uma régua (figura 2), cada grupo deverá medir o halo de inibição (em milímetros) para cada antibiótico, completando a tabela 1.

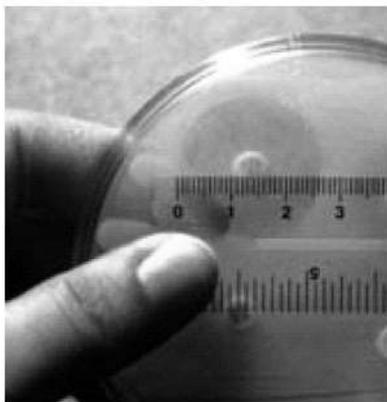


Tabela 1. Interpretação dos halos de inibição para *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*

Antibióticos*	Disco (µg)	Critério de Interpretação						Diâmetro do halo lido (mm)	Interpretação do isolado estudado
		Sensível		Intermediário		Resistente			
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>		
Penicilina	PEN (10)	-	≥ 29	-	-	-	≤ 28		
Eritromicina	ERI (15)	-	≥ 23	-	14-22	-	≤ 13		
Ac. Nalidixico	NAL (30)	≥ 19	-	14-18	-	≤ 13	-		
Enrofloxacina	ENO (5)	≥ 23	≥ 23	17-22	17-22	≤ 16	≤ 16		
Ceftiofur	CTF (30)	≥ 21	≥ 21	18-20	18-20	≤ 17	≤ 17		

* **Penicilinas:** penicilina; **Cefalosporinas:** ceftiofur; **Macrólídeos:** eritromicina; **Quinolonas:** Ac. Nalidixico, enrofloxacina. (Penicilina e Cefalosporinas são beta-lactâmicos)

QUESTÕES PARA RELATÓRIO AULA PRÁTICA Nº4

- a) Cite critérios de seleção na escolha dos antibacterianos para realizar um teste de suscetibilidade.
- b) Segundo o antibiograma, mencione quais antibióticos são de amplo espectro e quais são de espectro restrito.
- c) Observando os resultado, em um caso de mastite bovina por *S. aureus*, que antibióticos poderiam ser utilizados no tratamento?

PRINCIPAIS ANTIBIÓTICOS CLASSIFICAÇÃO

PENICILINAS

- Naturais:
 - Penicilina G (via oral ou intramuscular).
 - Penicilina G Sódica o Potássica (endovenosa).
 - Penicilina V (via oral).
- Penicilinas resistentes às penicilinases.
 - Meticilina (via parenteral).
 - Isoxazolilpenicilinas.
 - Cloxacilina (via oral).
 - Oxacilina (via parenteral ou oral).
- Aminopenicilinas.
 - Ampicilina (via parenteral).
 - Amoxicilina (via oral).
- Penicilinas antipseudomonas:
 - Carboxipenicilinas
 - Ticarcilina (via parenteral).
 - Ureidopenicilinas de espectro estendido.
 - Piperacilina (via parenteral).

CEFALOSPORINAS

- **De Primeira Geração:**
 - via oral:
 - Cefalexina.
 - Cefadroxilo.
 - via parenteral:
 - Cefalotina (EV).
 - Cefazolina (EV o IM).
- **De Segunda Geração**
 - via oral:
 - Cefaclor.
 - Cefuroxima.
 - via parenteral:
 - Cefuroxima.
 - Cefamicinas.
 - Cefoxitina.
 - Cefotetan.
- **De Terceira Geração**
 - via oral:
 - Cefpodoxima.
 - via parenteral:
 - Cefotaxima.
 - **Ceftiofur**
 - Ceftriaxona
 - Ceftazidima*
 - Cefoperazona*
- **De Quarta Geração**
 - Cefepime.
 - Cefpiroma.

* Activos Contra Pseudomonas.

MONOBACTÁMICOS

- Aztreonam.

CARBAPENEMS

- Imipenem.
- Meropenem
- Ertapenem.
- Doripenem.

INIBIDORES DAS BETA-LACTAMASAS

- Acido clavulánico.
- Sulbactam.
- Tazobactam.

MACROLÍDEOS

ANTIGOS MACROLÍDOS

- Eritromicina.

NOVOS MACROLÍDEOS

- Claritromicina.
- Azitromicina.

CETOLÍDEOS

- Telitromicina.

AMINOGLICOSÍDEOS

PRIMEIRA GERAÇÃO

- Estreptomicina.
- Neomicina.
- Kanamicina.

SEGUNDA GERAÇÃO

- Gentamicina.
- Amikacina.
- Netilmicina.
- Tobramicina.

QUINOLONAS

ANTIGAS QUINOLONAS

- Acido Nalidíxico.
- Acido Pipemídico.

NOVAS QUINOLONAS

- Norfloxacin.
- Enrofloxacin (Uso exclusivo Veterinário)
- Ciprofloxacina.
- Ofloxacin.
- Levofloxacin.

SULFONAMIDAS

- De eliminação rápida: .

- Sulfametazina
- **De eliminação média.**
 - Sulfametoxazol: de uso freqüente combinado com o trimetoprim (*BACTRIM*).
 - Sulfadiazina.
- **De ação intestinal.**
 - Sulfaguanidina.
 - Succinilsulfatiazol.
 - Sulfasalazina: utilizado no tratamento da colite ulcerosa.
- **De uso Tópico.**
 - Sulfacetamida: se utiliza em solução oftálmica para conjuntivites.
 - Sulfadiazina argéutica: se utiliza em queimaduras.

TRIMETOPRIMA

Inibe a enzima dihidrofolato redutase, provocando uma interferência no ácido fólico com posterior síntese de pirimidina na célula bacteriana.

TETRACICLINAS

PRIMEIRA GERAÇÃO

- **Sintéticas**
 - Tetraciclina HCL.

SEGUNDA GERAÇÃO

- **Semisintéticas:**
 - Doxiciclina.
 - Minociclina.

TERCEIRA GERAÇÃO

- Glicilciclinas.
 - Tigeciclina (9-t-butilglicilamido derivado da minociclina).

FENICOES

- Cloranfenicol.

NITROIMIDAZOL

- Metronidazol.

AÇUCARES COMPLEXOS

- Lincomicina.
- Clindamicina.

FARMACOS PARA O TRACTO URINÁRIO

- Nitrofurantoina (nitrofurano).

POLIMIXINAS

- Polimixina B .
- Colistin ou Polimixina E.

OXAZOLIDINONAS

- Linezolid.

GLICOPEPTÍDEOS

- Vancomicina.
- Teicoplanina.

ESTREPTOGRAMINA Y LIPOPEPTIDEOS

ESTREPTOGRAMINAS

- Quinupristina - dalfopristina.

LIPOPEPTIDOS

- Daptomicina.

RIFAMICINAS

- Rifampicina.