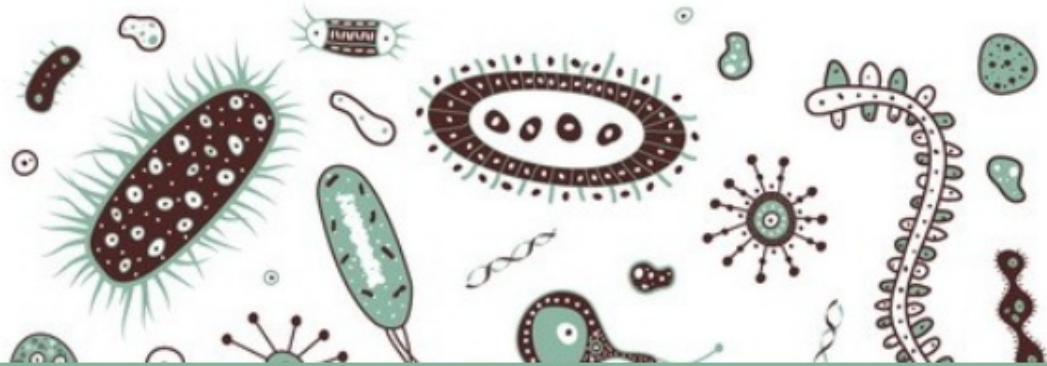


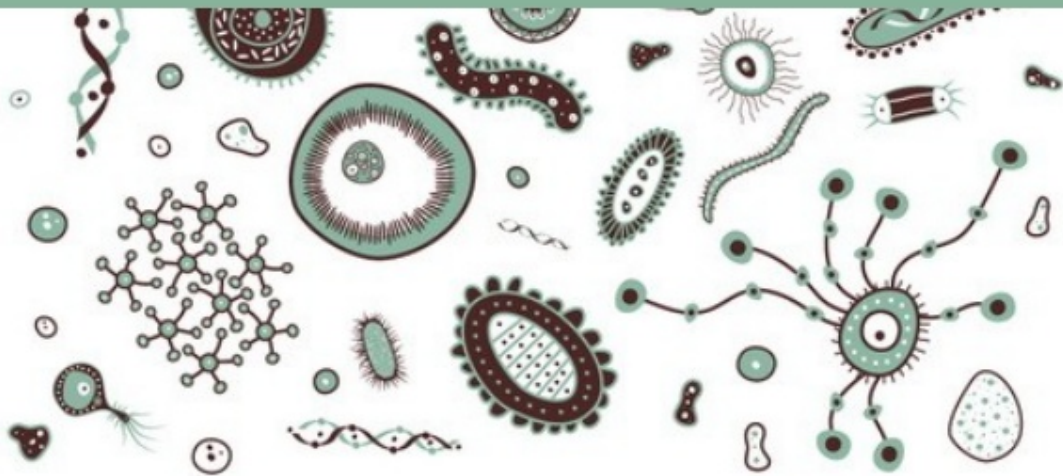


DEPARTAMENTO DE
MiCroBiologia
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

DISCIPLINA MICROBIOLOGIA BMM-0450



Apostila de Bacteriologia



Prof. Nilton Lincopan (lincopan@usp.br)

ROTEIRO DE EXERCÍCIOS PRÁTICOS 2021

INTRODUÇÃO À BIOSSEGURANÇA

I - NORMAS GERAIS DE SEGURANÇA PARA O TRABALHO NO LABORATÓRIO

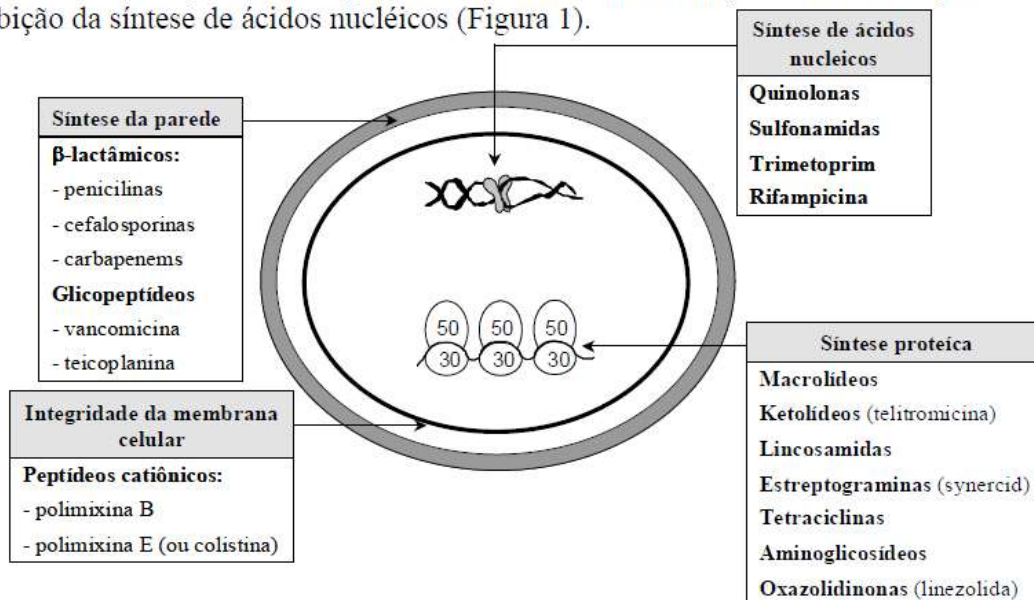
1. Utilizar avental limpo.
2. Manter as unhas curtas e os cabelos curtos ou presos.
3. Portar somente material para anotações (caderno, caneta, lápis, marcador de tubos/vidros).
4. Não fumar no interior do laboratório.
5. Não comer, beber, mascar chicletes e não levar as mãos à boca.
6. Trabalhar de 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.

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 determinação 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, Cefotiofur, 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.

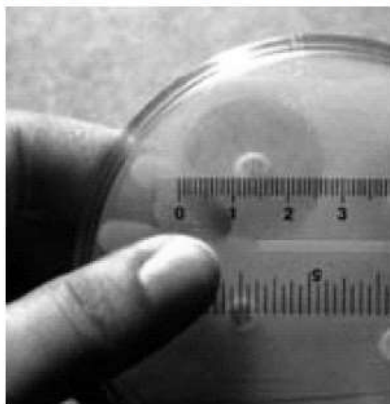


Tabela 1. Interpretação dos halos de inibição para *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*

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

- Ácido Nalidíxico.
- Ácido Pipemídico.

NOVAS QUINOLONAS

- Norfloxacin.
- Enrofloxacin (Uso exclusivo Veterinário)
- Ciprofloxacina.
- Ofloxacina.
- Levofloxacina.

SULFONAMIDAS

- De eliminação rápida: .

- Sulfametazina
- **De eliminación media.**
 - *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.