

Guia dos principais ágares

Seletividade, indicação clínica e leitura das colônias

ÁGAR SANGUE (ASC)

- Enriquecido / diferencial
- Hemólise: α (verde), β (halo claro), γ (nula)
- *S. pyogenes*: β -hemólise; *S. pneumoniae*: α

ÁGAR CHOCOLATE

- Enriquecido (fatores X e V)
- Fastidiosos: *Haemophilus*, *Neisseria*
- Não é seletivo — incubar 5-10% CO₂

MACCONKEY

- Seletivo (sais biliares + cristal violeta)
- Só Gram-negativos; diferencia lactose
- Lactose+ rosa | Lactose– incolor

EMB (LEVINE)

- Seletivo / diferencial para enterobactérias
- *E. coli*: brilho verde metálico
- *Klebsiella*: colônias róseas mucoides

SS (SALMONELLA-SHIGELLA)

- Altamente seletivo (verde brilhante + bile)
- *Salmonella*: centro preto (H₂S+)
- *Shigella*: incolor, sem H₂S

HEKTOEN (HE)

- Seletivo / diferencial entérico
- *Salmonella*: verde-azulado com centro preto
- Coliformes: colônias alaranjadas

MANITOL SALGADO (MSA)

- Seletivo: NaCl 7,5% (estafilococos)
- *S. aureus*: manitol+ → amarelo
- *S. epidermidis*: manitol– → meio rosa

CLED

- Urocultura: sem eletrólitos
- Impede o espraçamento de *Proteus*
- Lactose+ amarelo | Lactose– azul

SABOURAUD (SDA)

- Fungos e leveduras; pH 5,6
- Cloranfenicol/ciclo-heximida inibem bactérias
- Incubar 25-30 °C por até 4 semanas

MUELLER-HINTON (MH)

- Meio padrão do antibiograma (disco-difusão)
- Profundidade 4 mm; pH 7,2-7,4
- +5% sangue de carneiro p/ estreptococos

REGRA DE OURO

Sempre semear um meio enriquecido (não seletivo) junto ao seletivo: o seletivo pode inibir o próprio agente causador.

Tabela rápida de Gram

Técnica, tempos, interpretação e principais erros de bancada

PROCEDIMENTO PASSO A PASSO

1	Cristal violeta	1 min	Corante primário — cora tudo de roxo
2	Lugol (iodo)	1 min	Mordente — forma complexo CV-iodo insolúvel
3	Álcool-acetona	5-10 s	Descoloração — etapa crítica do método
4	Fucsina / safranina	30 s	Contracorante — cora o que foi descolorido

INTERPRETAÇÃO

GRAM-POSITIVOS (ROXO/AZUL)

- Peptidoglicano espesso (20-80 nm) retém o CV
- Ácidos teicoicos; sem membrana externa
- Cocos em cacho: Staphylococcus
- Cocos em cadeia: Streptococcus
- Bacilos: Bacillus, Clostridium, Listeria

GRAM-NEGATIVOS (ROSA/VERMELHO)

- Peptidoglicano fino + membrana externa (LPS)
- LPS = endotoxina (choque séptico)
- Bacilos: E. coli, Klebsiella, Proteus
- Não fermentadores: Pseudomonas, Acinetobacter
- Diplococos: Neisseria (intracelulares no pus)

ERROS MAIS COMUNS

Descoloração excessiva	Gram+ aparece como Gram– (falso negativo). Álcool por no máximo 10 s.
Esfregaço espesso	Retém corante no centro; leia sempre a borda do esfregaço.
Cultura velha (>24 h)	Gram+ perde parede e cora de forma variável (Gram-variável).
Excesso de calor na fixação	Distorce a morfologia e pode lisar as células.

NÃO CORAM PELO GRAM

Mycobacterium (usar Ziehl-Neelsen), Mycoplasma (sem parede), Treponema, Chlamydia e Legionella (fraca).

Guia de Rugai (IAL)

Meio multiteste para triagem de enterobactérias — leitura em 18-24 h a 35 °C

O QUE CADA REGIÃO DO TUBO REVELA

REGIÃO	PROVA	LEITURA
Base (fundo)	Glicose	Amarelo = glicose fermentada. Bolhas/fenda = gás.
Base	H ₂ S	Enegrecimento do fundo = produção de H ₂ S.
Base	L-lisina (LDC)	Permanece amarelo = LDC–; retorna violeta = LDC+.
Rampa (bisel)	Sacarose	Amarelo = sacarose fermentada; vermelho = não.
Rampa	Urease	Rosa-pink intenso na rampa = urease+.
Rampa	L-triptofano desaminase	Verde-garrafa na superfície = LTD+ (grupo Proteae).
Após reagente	Indol (Kovacs)	Anel vermelho na superfície = indol+.
Todo o tubo	Motilidade	Turvação difusa fora da picada = móvel.

PERFIS TÍPICOS

MICRORGANISMO	Glic/Gás	Sacar.	Lisina	H ₂ S	Urease	LTD	Indol	Motil.
E. coli	+/+	v	+	–	–	–	+	+
Klebsiella pneumoniae	+/+	+	+	–	v	–	–	–
Enterobacter spp.	+/+	+	+	–	–	–	–	+
Proteus mirabilis	+/+	–	–	+	+	+	–	+
Proteus vulgaris	+/+	+	–	+	+	+	+	+
Salmonella spp.	+/+	–	+	+	–	–	–	+
Shigella spp.	+/-	–	–	–	–	–	v	–
Serratia marcescens	+/v	+	+	–	–	–	–	+

v = variável entre cepas. Rugai é triagem: confirme por provas complementares, sorologia ou identificação automatizada/MALDI-TOF.

ATENÇÃO NA SEMEADURA

Picar a base e estriar a rampa com agulha, a partir de colônia isolada e pura. Não afrouxar a tampa: a anaerobiose parcial da base é necessária para a leitura correta de glicose, gás, H₂S e lisina.

Mini tabela de diluições

Padronização de inóculo, contagem em urocultura e cálculos de bancada

PADRONIZAÇÃO DO INÓCULO

ESCALA DE MCFARLAND

- 0,5 McFarland $\approx 1,5 \times 10^8$ UFC/mL
- 1,0 $\approx 3,0 \times 10^8$ | 2,0 $\approx 6,0 \times 10^8$ UFC/mL
- Diluente: salina estéril 0,85% ou caldo MH
- Ler em turbidímetro ($DO_{625} = 0,08-0,13$)
- Usar o inóculo em até 15 minutos

DILUIÇÕES SERIADAS (BASE 10)

- 1 mL de amostra + 9 mL de diluente = 1/10 (10^{-1})
- Repetir a cada tubo: 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ...
- $\text{UFC/mL} = \text{colônias} \times \text{FD} \div \text{volume semeado}$
- Placa contável: 30 a 300 colônias
- Homogeneizar 10 s entre cada passagem

UROCULTURA — ALÇA CALIBRADA

Alça de 1 μL	1 colônia = 1.000 UFC/mL	Fator 1.000 — padrão para urina
Alça de 10 μL	1 colônia = 100 UFC/mL	Fator 100 — baixas contagens
≥ 100.000 UFC/mL	Infecção urinária provável	Jato médio, paciente sintomático
10.000-100.000 UFC/mL	Zona cinzenta	Correlacionar com clínica e leucocitúria
≥ 3 espécies diferentes	Contaminação provável	Solicitar nova coleta

CÁLCULOS RÁPIDOS

$C_1V_1 = C_2V_2$	Diluir de uma concentração conhecida para outra desejada.
Ex.: 100 $\mu\text{g/mL} \rightarrow 10 \text{ mL a } 10 \mu\text{g/mL}$	$V_1 = (10 \times 10) \div 100 = 1 \text{ mL do estoque} + 9 \text{ mL de diluente.}$
Fator de diluição (FD)	$\text{FD} = \text{volume final} \div \text{volume da amostra. } 1 \text{ mL em } 9 \text{ mL} \rightarrow \text{FD} = 10.$
UFC/mL final	$\text{N}^\circ \text{ de colônias} \times \text{FD} \div \text{volume semeado (mL).}$
Ex.: 48 colônias, 10^{-3} , 0,1 mL	$48 \times 1.000 \div 0,1 = 4,8 \times 10^5 \text{ UFC/mL.}$

DICA DE BANCADA

Inóculo acima de 0,5 McFarland reduz os halos e gera falsa resistência; abaixo, aumenta os halos e gera falsa sensibilidade.

Checklist de antibiograma

Disco-difusão segundo o BrCAST/EUCAST — conferir antes de liberar o laudo

PRÉ-ANALÍTICO

- ☐ Cultura pura, isolada e jovem (18-24 h).
- ☐ Identificação do microrganismo concluída (o breakpoint depende da espécie).
- ☐ Painel de antimicrobianos compatível com a espécie e o sítio de infecção.
- ☐ Discos dentro da validade, conservados a 2-8 °C e em temperatura ambiente antes do uso.

ANALÍTICO

- ☐ Inóculo ajustado a 0,5 McFarland e semeado em até 15 minutos.
- ☐ Swab escorrido na parede do tubo antes de semear (evita excesso de inóculo).
- ☐ Semeadura em 3 direções + borda, formando tapete confluyente.
- ☐ Placa de Mueller-Hinton com 4 mm de profundidade e superfície seca.
- ☐ Discos aplicados em até 15 min após a semeadura, com boa aderência ao ágar.
- ☐ Distância mínima de 24 mm entre centros de discos; máx. 6 discos em placa de 90 mm.
- ☐ Incubação a 35 ± 1 °C, ar ambiente, por 16-20 h (placas não empilhadas > 5).

PÓS-ANALÍTICO E LIBERAÇÃO

- ☐ Leitura do halo pelo diâmetro total de inibição, em mm, com régua ou paquímetro.
- ☐ Leitura contra fundo escuro e luz refletida (MH com sangue: leitura pela superfície).
- ☐ Interpretação pela tabela BrCAST vigente — S, I (sensível com maior exposição) ou R.
- ☐ Aplicar as notas de bancada e testes confirmatórios (ESBL, carbapenemases, D-test).
- ☐ Checar coerência do perfil e a leitura interpretativa antes de liberar.
- ☐ Cepas ATCC do controle de qualidade dentro da faixa esperada.

ERROS QUE MAIS INVALIDAM O TESTE

Ágar muito fino ou muito espesso, inóculo fora do padrão, discos mal aderidos e leitura antes de 16 h de incubação.

Facilite sua bancada com o MicrobioHub

Calculadoras online, protocolos e o e-book Microbiologia Prática

www.microbiohub.com