



Instituto Federal de Santa Catarina

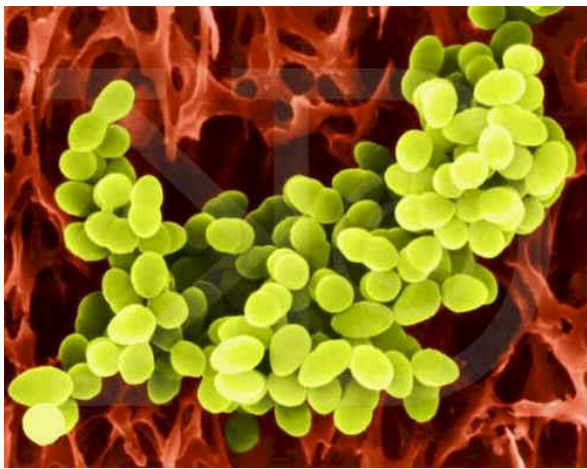
Câmpus Florianópolis

Unidade Curricular: MICROBIOLOGIA

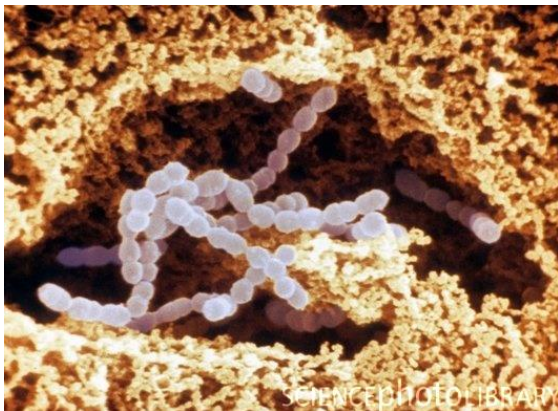
Aula3:

Nutrição, Metabolismo e Reprodução Microbiana

Prof. Leandro Parussolo
leandro.parussolo@ifsc.edu.br



MICRO-ORGANISMOS



**Mesmas necessidades
nutritivas que todos seres
vivos**



Grande maioria das bactérias são
quimiotróficas

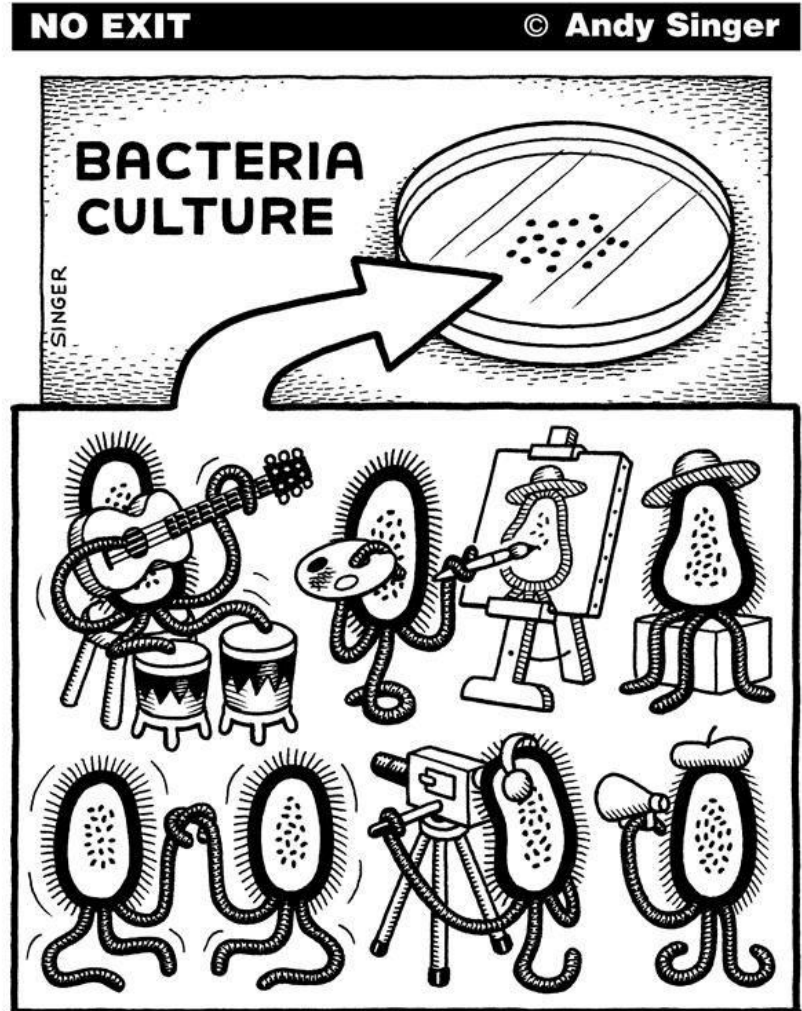
Litotróficas: Oxidam compostos
inorgânicos

Organotróficas: oxidam compostos
orgânicos

O crescimento bacteriano exige a presença de **nutrientes essenciais** em **concentrações ideais** para as cells e **ambiente propício**



Bactérias – necessitam de uma série de exigências de natureza física, inorgânica e orgânica para seu crescimento



Natureza Física e Inorgânica

Temperatura:

Psicrófilas: 0 a 18° C (algumas spp até abaixo de 0° C)
– temp. ótima (15 a 18° C);

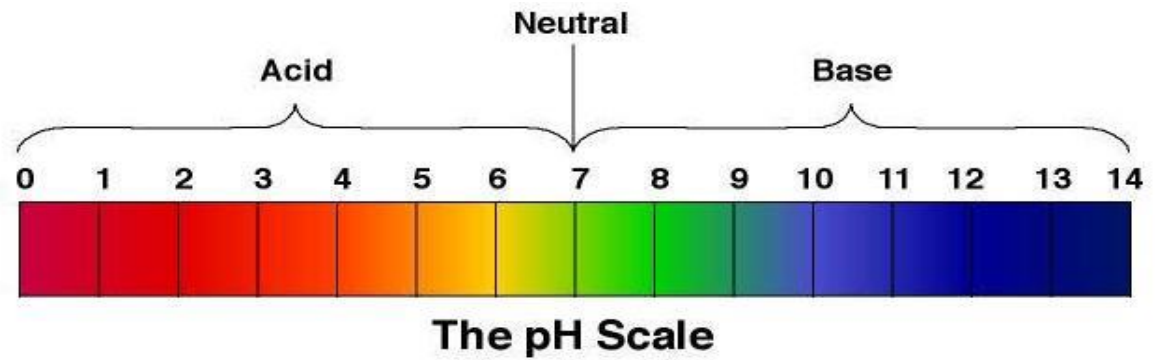
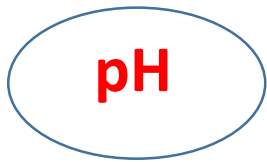


Mesófilas: 25 a 40° C (bactérias da microbiota normal e patogênicas) – temp. ótima (37° C);



Termófilas: 45 a 80° C temp. ótima (75° C)

Algumas bactérias podem se desenvolver acima de 90° C



Micro-organismos necessitam de pH ótimo para crescimento em determinados meios de cultura;

✓ pH 7,0 (neutro) – microrganismos da microbiota normal humana e patogênicos;

✓ pH 3,0 (ácido) – ex: *Lactobacillus*

✓ pH 8,5-9,5 (alcalino) – ex: *Vibrio Cholerae*



Utilização de O_2 como aceptor de H pelas bactérias é variável:

✓ **Aeróbios obrigatórios**

✓ ***Microaerófilos***

✓ ***Anaeróbios facultativos***

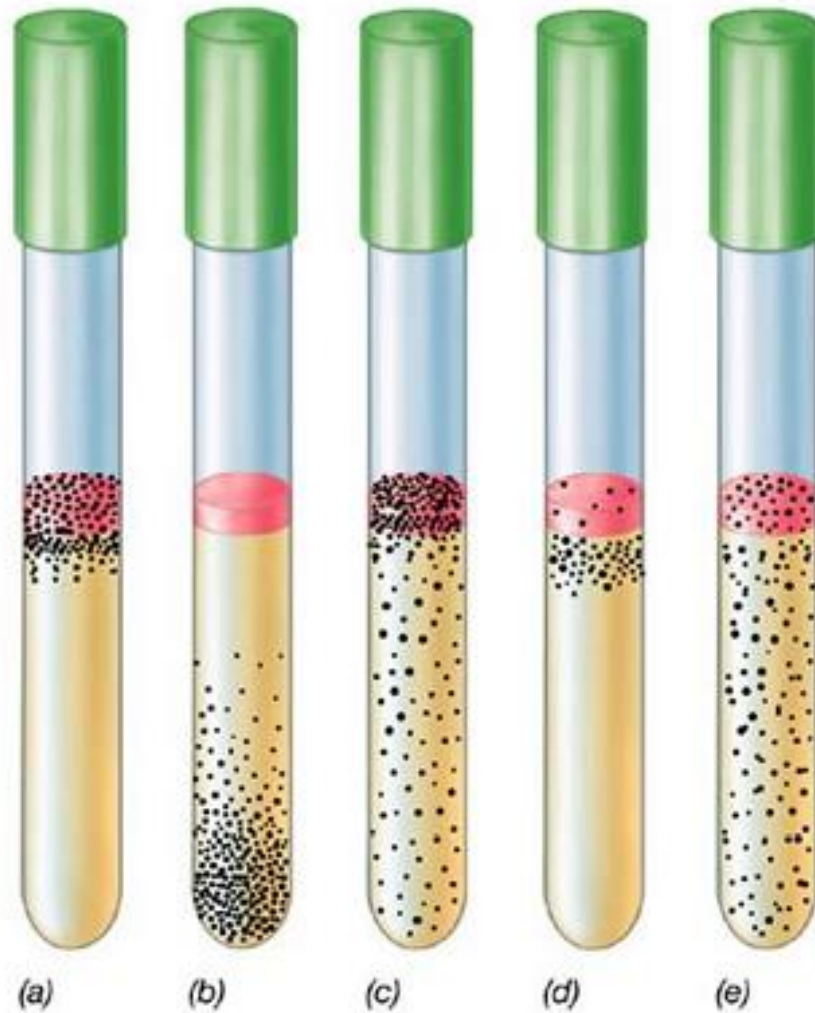
✓ ***Anaeróbios***

- ***aerotolerantes***: podem crescer em ambiente contendo ar ou em incubadores de CO_2

- ***moderados***: crescem na presença de 2 a 8% de O_2 livre

- ***estritos***: na presença de O_2 podem morrer em poucos minutos

Oxigênio



Representação dos tipos de crescimento bacteriano quanto à presença de oxigênio em meio caldo tioglicolato. (a) aeróbios obrigatórios. (b) anaeróbios obrigatórios. (c) aeróbios facultativos. (d) microaerófilos. (e) anaeróbios aerotolerantes. Fonte: Madigan et al., 2004.

CO₂



- ❑ Necessário para todas bactérias em determinadas concentrações

Íons Inorgânicos



- ❑ Fornecidos pela água ou por constituintes dos meios de cultura;
- ❑ Bactérias necessitam de: *ferro, potássio, magnésio, enxofre, zinco, cobre, fosfatos, carbonatos, etc.*

COMPOSTOS ORGÂNICOS

• Fontes de Carbono

Carbono → essencial para que as bactérias sintetizem os componentes celulares

deve ser fornecido na forma de compostos orgânicos (ex: glicose) ou inorgânico na forma de CO₂.

Várias fontes de carbono podem ser utilizadas pelas bactérias:

- ✓ Carboidratos
- ✓ Aminoácidos
- ✓ celulose



- **Fontes de Nitrogênio**

- ✓ **Aminoácidos**
- ✓ **Peptonas e Peptídeos**
- ✓ **Extrato de tecidos (*carne, cérebro, outros*)**
- ✓ **Sangue e/ou soro**
- ✓ **Extratos de leveduras (*contém peptonas e vitaminas*)**
- ✓ **Outros.**



Cultivo

Meios de Cultura – alguns termos...

- **Meio de cultura:** solução nutriente utilizada para promover o crescimento de microrganismos em laboratório.
- **Inóculo:** microrganismos que são colocados em um meio de cultura para iniciar o crescimento.
- **Cultura:** microrganismos que crescem e se multiplicam nos meios de cultura.
- **Cultura pura:** corresponde a uma cultura contendo um único tipo de microrganismo.
- **Cultura mista:** corresponde a uma cultura contendo mais de um tipo de microrganismo.

Meios de Cultura – quanto à composição

Meios

```
graph LR; Meios[Meios] --- QD[Quimicamente definidos]; Meios --- CI[Complexos (ou indefinidos)];
```

Quimicamente definidos:

Quantidades precisas de compostos químicos inorgânicos ou orgânicos altamente purificados, adicionados a água destilada.

Complexos (ou indefinidos):

Não se conhece a composição precisa de alguns componentes. Empregam produtos de digestão da caseína (proteína do leite), de carne, de soja, de leveduras, extratos de plantas, entre outros.

Meios de Cultura – quanto à finalidade

Meios

Seletivo:

Favorece o crescimento do microrganismo de interesse e impede o crescimento de outros.

Ex.: Ágar BEM, Ágar MacConkey, Ágar sulfeto de bismuto para isolamento de *Salmonella typhi* a partir das fezes.

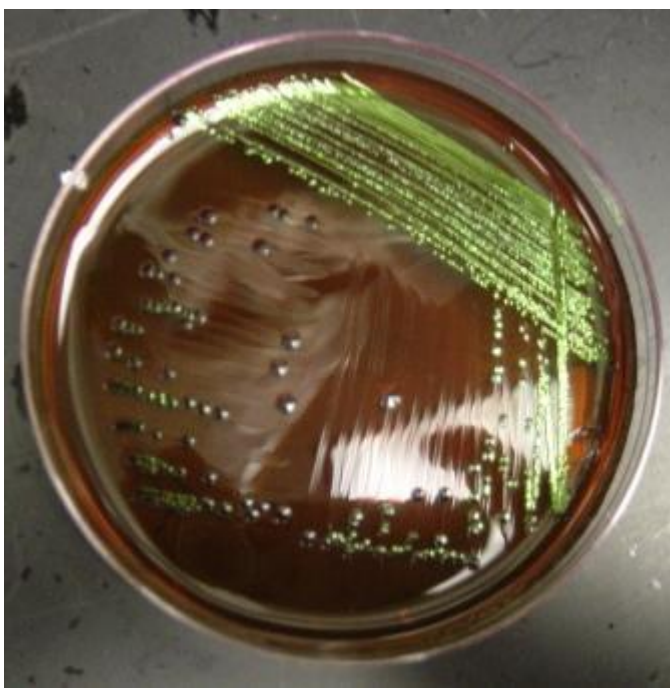
Diferencial:

Permite a fácil identificação da colônia da bactéria de interesse, dentre as colônias de outras bactérias crescidas no meio.

Ex.: Meio ágar sangue para detectar a presença de *Streptococcus pyogenes* (forma-se um halo claro em torno da colônia pela lise das hemáceas).

de Enriquecimento:

Semelhante ao seletivo, mas suplementado por nutrientes especiais, com a característica de aumentar o número da bactéria de interesse tornando-a detectável.



Agar EMB



Agar MacConkey



Agar Sanguine



Agar Manitol Salgado

METABOLISMO BACTERIANO

Conjunto de reações químicas realizadas por 1 cell;

*Reações conectadas de forma que ocorra a formação de gdes moléculas a partir de mol pequenas – **biossíntese** ou **anabolismo***



Necessário energia disponível

***Bactérias** → formas de vida mais versáteis em sua habilidade d obter energia a partir de oxidações químicas ou de processos fototróficos e usar essa energia nos processos essenciais a vida.*

Glicólise

Glicose – energia contida, pode ser liberada pela *glicólise*



Sequência de reações

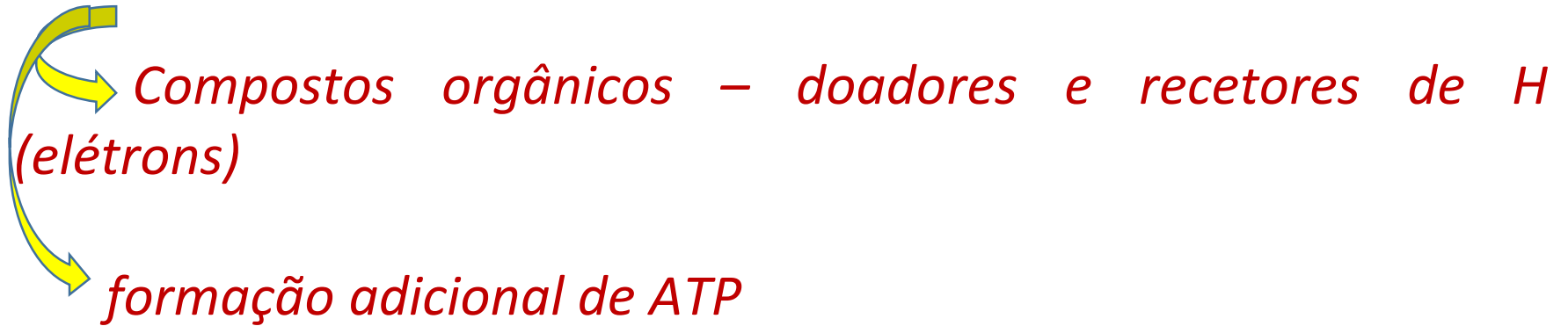


mol. é quebrada em 2 mols. de ácido pirúvico (3C)



acompanhada de produção de ATP e NADH (dinucleotídeo de adenina nicotinamida).

Fermentação - decomposição microbiana de carboidratos independente de O₂.



Fermentação alcóolica – *produção de álcool* (*Sacaromyces cerevisiae*)

Fermentação homolática – *produção de ácido láctico* (*Lactobacillus*)

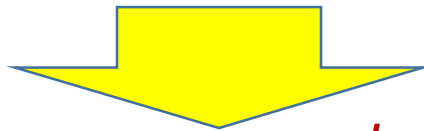
Fermentação acética – *produção de ácido acético* (*Acetobacter*)

Fermentação mista – *produção de ácido, álcool e gás* (*Clostridium*)

Fermentação butileno-glicólica – *produção de butileno glicol (produto não ácido)* (*Klebsiella*)

Respiração

Também chamada - Ciclo de Krebs → processo oxidativo que transfere energia do ácido pirúvico para formar NADH e FADH

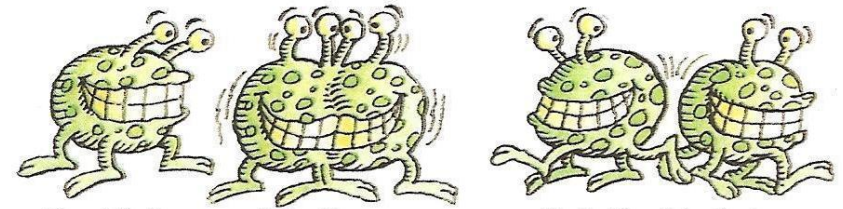


Energia contida nesses carregadores de e⁻, utilizada na formação de ATP na cadeia transportadora de e⁻

→ Alguns microrganismos anaeróbios possuem cadeia respiratória que converte a energia dos e⁻ em ATP na ausência de O₂.

(Aceptor de e⁻, moléculas como sulfato, nitrato ou CO₂)

Crescimento Bacteriano



Bactérias multiplicam-se por divisão binária

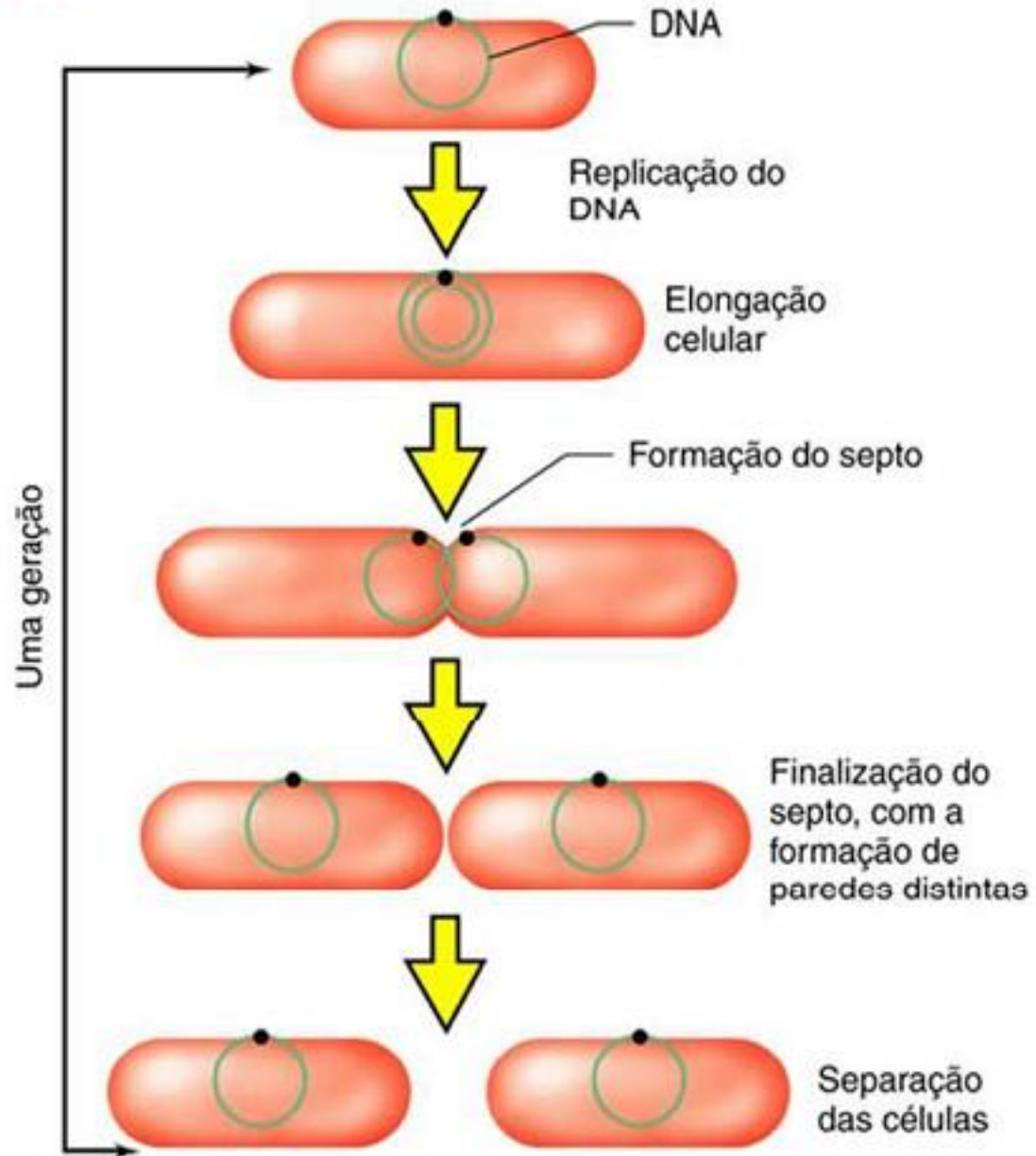
- É o aumento no número de células.
- Importante seu conhecimento para o desenvolvimento, p.e., de métodos de controle.
- Fissão binária: modo mais comum de reprodução bacteriana.

Os produtos da divisão celular são iguais:



Fissão binária: bactérias convencionais

Fissão Binária



Crescimento populacional

Tempo de Geração: intervalo de tempo em que uma célula origina duas novas células ou tempo necessário para uma população dobrar de número.

Número de Gerações	Número de Células	Log₁₀ do Número de Células
0	1	0
5 (2^5) =	32	1,51
10 (2^{10}) =	1.024	3,01
15 (2^{15}) =	32.768	4,52
16 (2^{16}) =	65.536	4,82
17 (2^{17}) =	131.072	5,12
18 (2^{18}) =	262.144	5,42
19 (2^{19}) =	524.288	5,72
20 (2^{20}) =	1.048.576	6,02

Conversão do número de células de uma população em uma expressão logarítmica desse número.

Um técnico em química está analisando a reprodução de uma população de bactérias, que se iniciou com 100 indivíduos. Admite-se que a taxa de mortalidade das bactérias é nula. Os resultados, na primeira hora são:

Tempo decorrido(minutos)

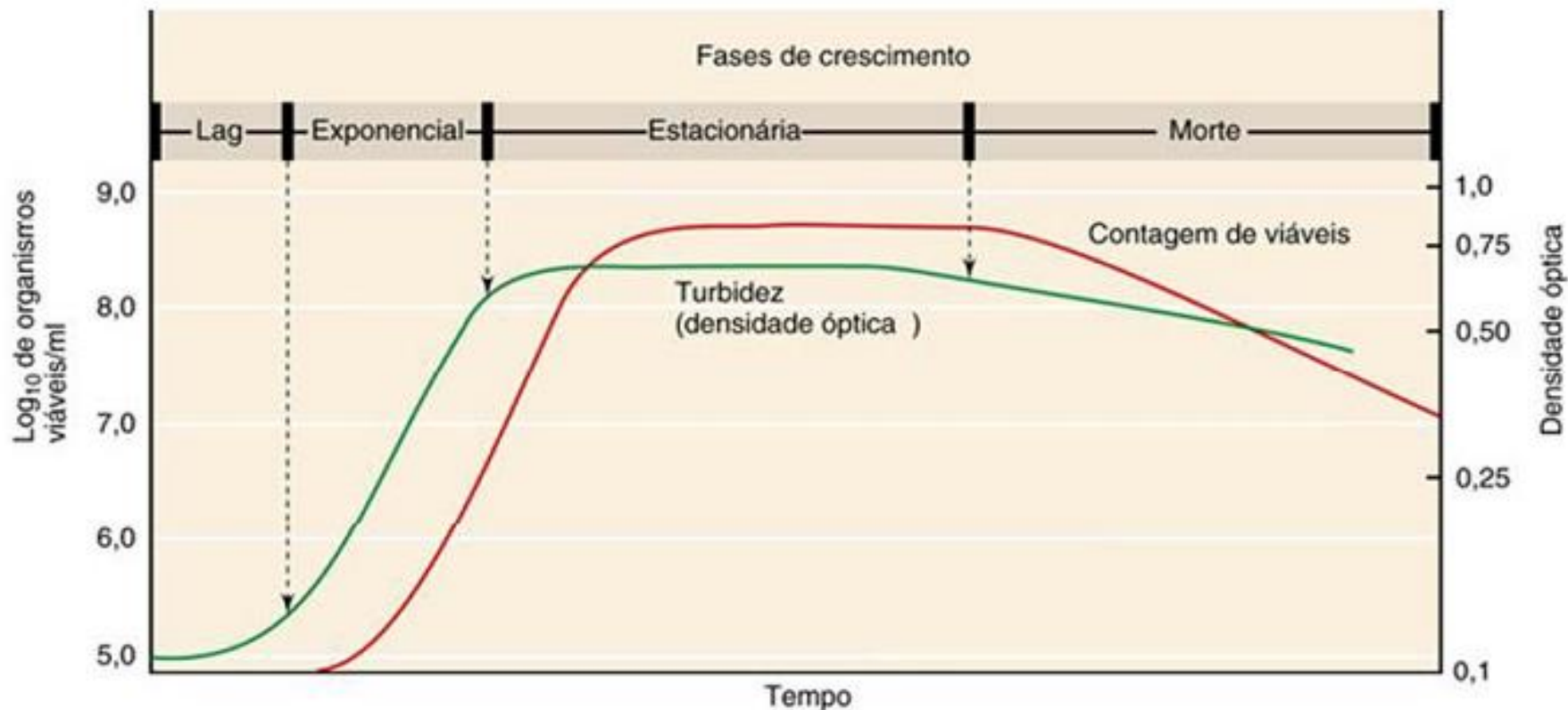
Número de bactérias

<i>0</i>	<i>100</i>
<i>20</i>	<i>200</i>
<i>40</i>	<i>400</i>
<i>60</i>	<i>800</i>

Supondo-se que as condições de reprodução continuem válidas nas horas que se seguem, após 4 horas de início do experimento, a população de bactérias será de:

- a) 51.200***
- b) 102.400***
- c) 409.600***
- d) 819.200***
- e) 1.638.400***

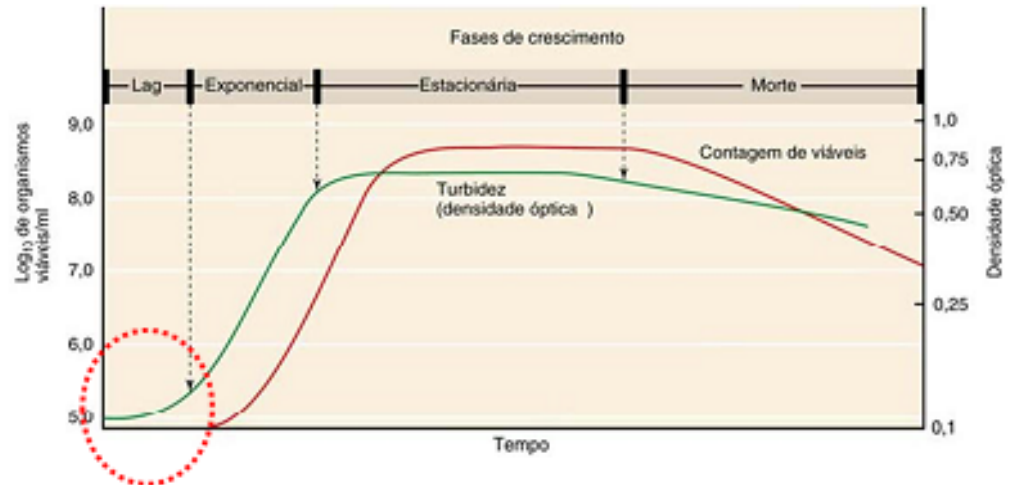
Fases do crescimento de uma população



Curva de crescimento típica de uma população bacteriana, a partir de uma *cultura em batelada** (Fonte: Madigan et al., 2004).

* Cultura que se desenvolve em um volume fixo de meio de cultura.

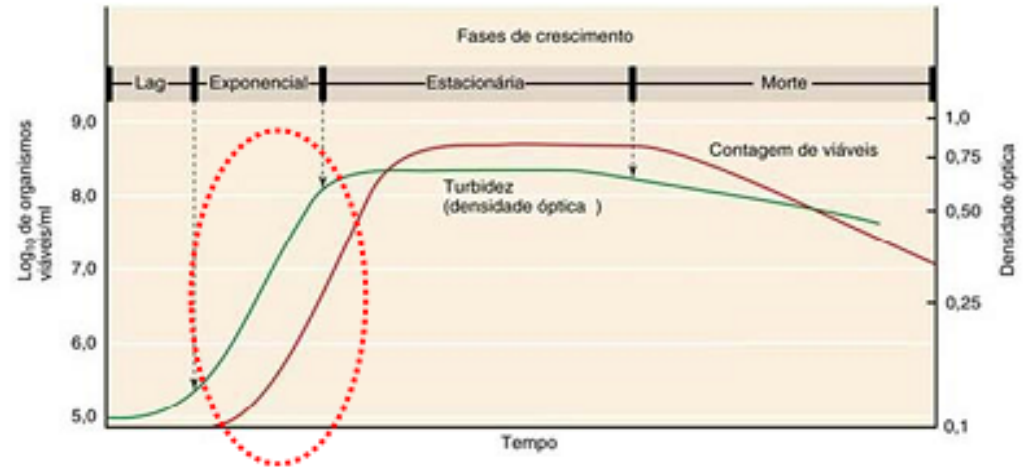
Fases do crescimento



LAG

- Pouca ou ausência de divisão celular.
- Síntese enzimática e de moléculas variadas.
- Pode ser curta ou longa, dependendo das condições fisiológicas do inóculo.
- Aumento na quantidade de proteínas, no peso seco e no tamanho celular

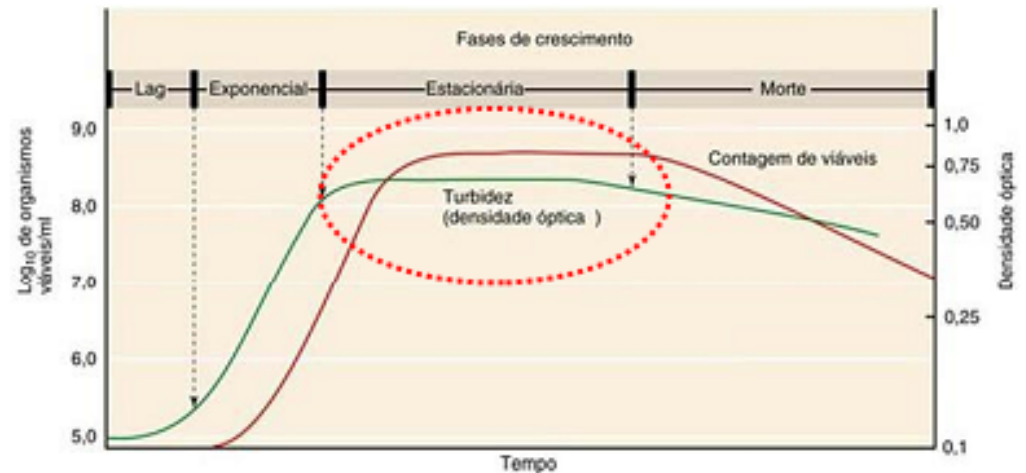
Fases do crescimento



EXPONENCIAL

- Crescimento exponencial das células – Tempo de Geração constante – linha reta no gráfico.
- Fase que as células estão mais “saudáveis” – utilizadas para estudos enzimáticos e de outros componentes celulares.
- Taxa de crescimento exponencial (número de gerações por unidade de tempo) de uma população pode ser influenciada pelas condições de cultivo, p.e.

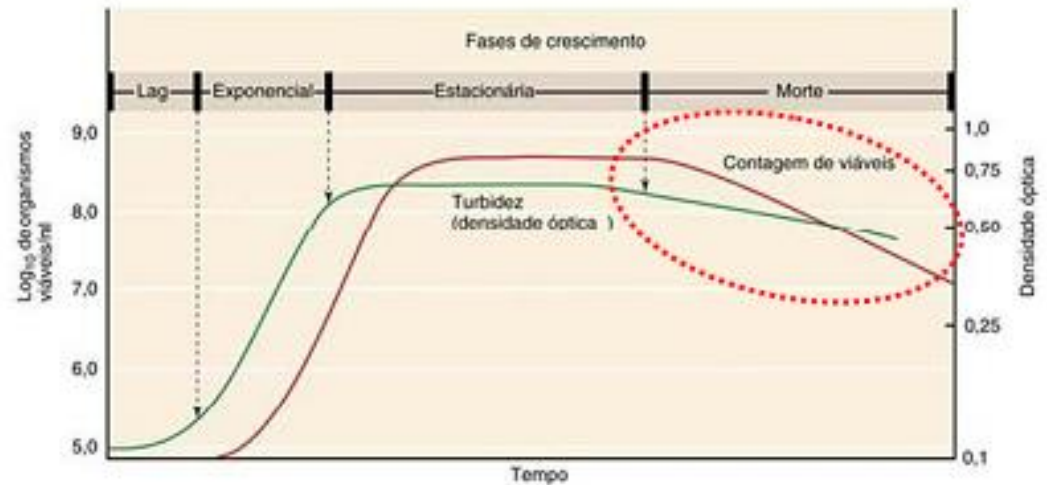
Fases do crescimento



ESTACIONÁRIA

- Não há crescimento líquido da população, ou seja, o número de células que se divide é equivalente ao número de células que morrem.
- Síntese de vários metabólitos secundários (antibióticos e algumas enzimas). Também pode ocorrer a esporulação das bactérias.
- Alterações de fenótipo por *quorum sensing* (processo de comunicação celular mediado pela densidade populacional).
- Causas: esgotamento de nutrientes essenciais, acúmulo de produtos de excreção em concentrações inibitórias, alterações no pH.

Fases do crescimento



MORTE OU DECLÍNIO

- Número de células mortas excede o de células vivas.
- Na maioria dos casos, a taxa de morte é inferior à taxa de crescimento exponencial.
- A contagem total permanece relativamente constante, enquanto a de viáveis cai lentamente. Em alguns casos há a lise celular.

Medidas diretas do crescimento microbiano

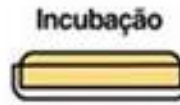
Método de semeadura por espalhamento



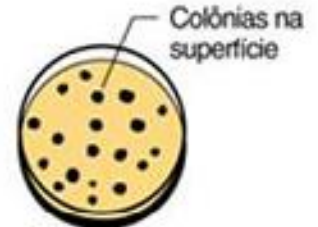
A amostra é depositada na superfície de uma placa de meio sólido (0,1 ml ou menos)



A amostra é espalhada de forma homogênea na superfície do meio com o auxílio de uma alça de vidro estéril



Incubação



Resultado típico de uma semeadura por espalhamento

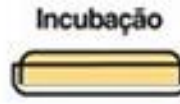
Método de semeadura em profundidade



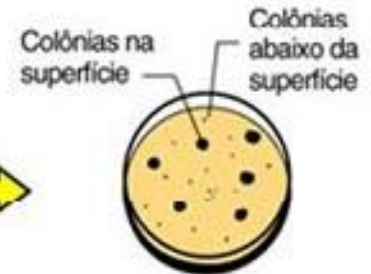
A amostra é depositada em uma placa estéril



O meio estéril é adicionado e misturado ao inóculo



Incubação



Resultado típico de uma semeadura em profundidade

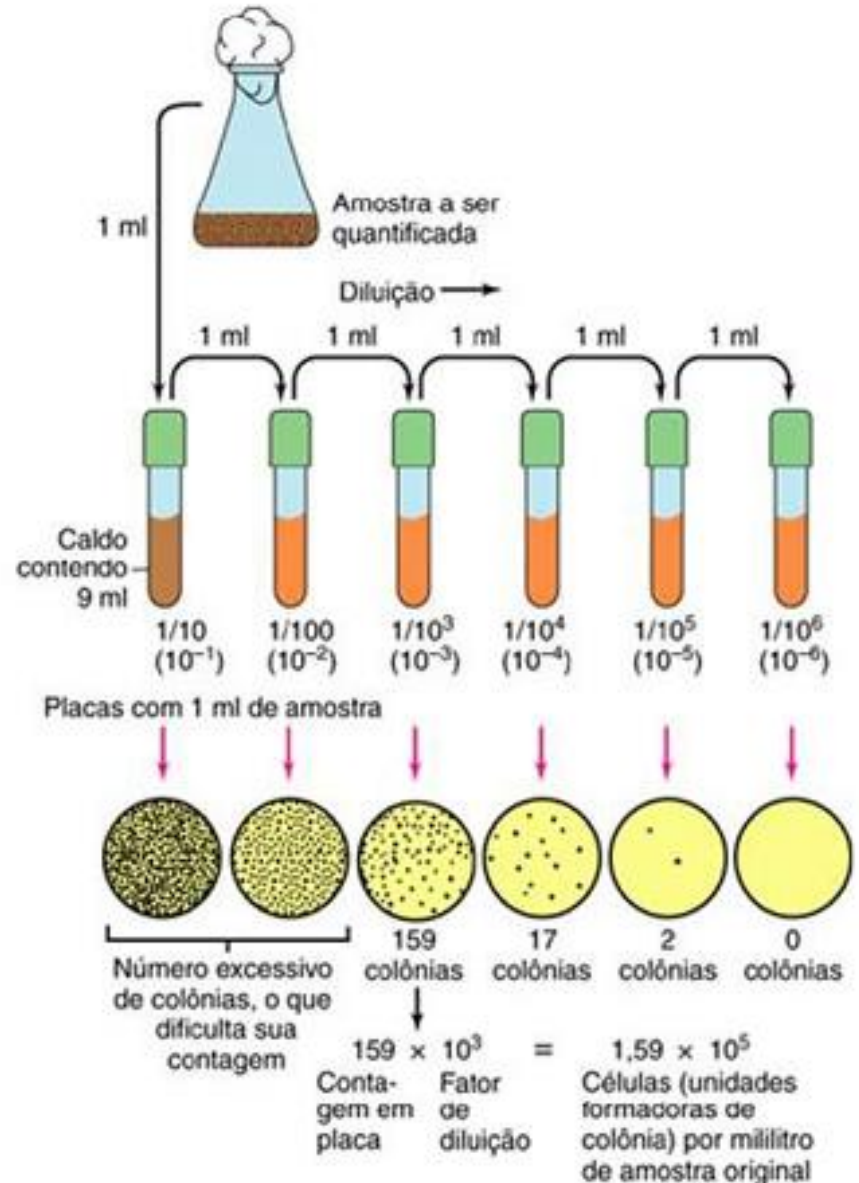
Métodos de semeadura em placa para contagem de bactérias viáveis.

Fonte: Madigan et al., 2004.




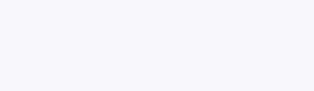

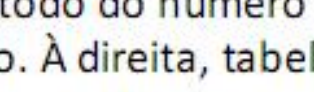
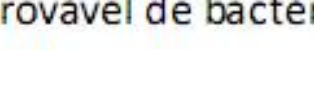

Medidas diretas do crescimento microbiano

Procedimento de contagem de viáveis por meio de diluições em série da amostra e o método de semeadura em profundidade (*pour plate*).
Fonte: Madigan et al., 2004.

Intervalo ideal para contagem: 30 a 300 unidades formadoras de colônias (UFC).



Medidas diretas do crescimento microbiano

Volume de Inóculo em Cada Grupo de Cinco Tubos	Tubos Contendo Meio Nutriente (Grupo com Cinco Tubos)	Número de Tubos Positivos em Cada Grupo	Combinações de Tubos Positivos	Índice de NMP/100 mL	Limites com 95% de Confiabilidade	
					Inferior	Superior
10 mL		5	4-2-0	22	9	56
1 mL		3	4-2-1	26	12	65
			4-3-0	27	12	67
			4-3-1	33	15	77
			4-4-0	34	16	80
0,1 mL		1	5-0-0	23	9	86
			5-0-1	30	10	110
			5-0-2	40	20	140
			5-1-0	30	10	120
			5-1-1	50	20	150
			5-1-2	60	30	180
			5-2-0	50	20	170
			5-2-1	70	30	210
			5-2-2	90	40	250
			5-3-0	80	30	250
	5-3-1	110	40	300		
	5-3-2	140	60	360		

Método do número mais provável (NMP). À esquerda, série de diluições do método. À direita, tabela do NMP que permite calcular o número estatisticamente provável de bactérias presentes na amostra. Fonte: Tortora et al., 2005.

Referências Bibliográficas

- Jorge, A.O.C. **Princípios de Microbiologia e Imunologia**. São Paulo: Santos, 2010.
- Trabulsi, L.R. et al. **Microbiologia**. 4ª ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 718 p.
- Tortora, G.T.; Funke, B. R.; Case, C. L. **Microbiologia**. 8ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894p.
- Madigan et al., **Microbiologia de Brock**. 10ª ed. São Paulo: Prentice-Hall, 2004.