

## Programa

<b>Dia</b>		<b>Assunto (7:30 às 11:00 hs)</b>
<b>28/2</b>	T T P	Introdução à Microbiologia Morfologia e estrutura bacteriana <b>Prática 1:</b> Microscopia: Morfologia e estrutura bacteriana
<b>07/3</b>	Pr T P	<b>Prova 1</b> Nutrição bacteriana <b>Prática 2:</b> Nutrição bacteriana– semeadura em diferentes meios de cultura
<b>14/3</b>	Pr T P	<b>Prova 2</b> Metabolismo bacteriano: processo aeróbio, anaeróbio e metanogênese Leitura da Prática 2 e método de coloração de Gram
<b>21/3</b>	Pr T P	<b>Prova 3</b> Crescimento e Controle de microrganismos <b>Prática 3:</b> Controle do crescimento por ação de agentes físicos e químicos
<b>28/3</b>		<b>SEMANA SANTA</b>
<b>04/4</b>	Pr T P	<b>Prova 4</b> Morfologia e Fisiologia de Fungos <b>Prática 4:</b> Demonstração: Fungos
<b>11/4</b>	Pr T T P	<b>Prova 5</b> Métodos de diagnóstico microbiológico de aplicação ambiental Ecologia Microbiana - Interações microbianas Leitura da Prática 3.
<b>18/4</b>	Pr T P	<b>Prova 6</b> Diversidade Microbiana do solo e água <b>Prática 6:</b> Isolamento de micro-organismos da microbiota de amostras diversas
<b>25/4</b>	Pr T P	<b>Prova 7</b> Ciclos biogeoquímicos Leitura da aula prática 6
<b>02/5</b>	Pr T P	<b>Prova 8</b> Vírus de eucariotos e de procariotos: aspectos gerais <b>Prática 5:</b> ECP- Método de detecção e determinação de infectividade viral.
<b>09/5</b>	Pr	<b>PROVA MÓDULO BÁSICO</b>
<b>16/5</b>	T T	Biofilmes <i>Quorum sensing</i> bacteriano
<b>23/5</b>	Pr T T	<b>Prova 9</b> Doenças bacterianas de veiculação hídrica Biodegradação/Biorremediação por bactérias
<b>30/5</b>	Pr T	<b>Prova 10</b> Micro-organismos de importância em saneamento.
<b>06/6</b>	Pr T	<b>Prova 11</b> Fungos e sua importância ambiental
<b>13/6</b>	Pr T P	<b>Prova 12</b> Micro-organismos indicadores de qualidade de água: parâmetros, métodos laboratoriais e legislação. Doenças virais de veiculação hídrica. <b>Prática 7:</b> Isolamento de fagos
<b>20/6</b>	Pr T P	<b>Prova 13</b> Vírus no meio ambiente: importância ecológica e em saneamento. Métodos laboratoriais para pesquisa de vírus em matrizes de origem ambiental. Leitura da prática 7.
<b>27/6</b>	Pr	<b>AVALIAÇÃO FINAL</b>
<b>04/7</b>	Pr	Prova SUB

**Siglas:**T: aula teórica; P: aula prática; Pr: Prova

**Equipe de Professores:**

Profa. Dra. Dolores U. Mehnert (Coordenação) – [doloresmehnert@gmail.com](mailto:doloresmehnert@gmail.com)  
Profa. Dra. Elisabete José Vicente – [bevicent@usp.br](mailto:bevicent@usp.br)  
Prof. Dr. Gregório Gomes - [jcgomez@usp.br](mailto:jcgomez@usp.br)  
Prof. Dr. Mário Henrique de Barros - [mariohb@usp.br](mailto:mariohb@usp.br)  
Prof. Dr. Welington Luiz de Araújo - [wlaraujo@usp.br](mailto:wlaraujo@usp.br)

**Convidados:** Dra. Livia de Carvalho Fontes - [livia.fontes@usp.br](mailto:livia.fontes@usp.br)  
Prof. Dr. Theo Syrto O. de Souza - [theos@usp.br](mailto:theos@usp.br)  
MSc. Luiz Gustavo de Almeida - [luizgualmeida@gmail.com](mailto:luizgualmeida@gmail.com)  
MSc Henrique Iglesias Neves - [iglesias.henrique@gmail.com](mailto:iglesias.henrique@gmail.com)

**Técnicos: Aline Carolina da Costa Lemos**

Leandro Garrido

**Tatiana Alves dos Reis**

**Carolina Bertelli de Souza Ferreira**

**Zita Maria de Oliveira Gregório**

Telma Alves Monezi

**PAE:** Pós-Graduando Marco Antonio de Lima Noronha – [marco.noronha@usp.br](mailto:marco.noronha@usp.br)

**Bibliografia**

- Madigan, M. T.; Martinko, J. M. e Parker, J. Microbiologia de Brock. 10. Edição. Pearson Education do Brasil LTDA
- Voet, D.; Voet, J. Bioquímica. Artmed Editora, 3ª. Edição 2006.
- Barbosa, H. R. & Torres, B. B. Microbiologia Básica. Atheneu, São Paulo, 1999.
- Maier, RM; Pepper, IL, Gerba, CP Environmental Microbiology, Academic Press, 2nd edition, 2009.

**Sites interessantes**

[www.microbelibrary.org](http://www.microbelibrary.org)

[www.microbeworld.org](http://www.microbeworld.org)

[www.ecocyc.org](http://www.ecocyc.org); [www.genome.ad.jp/kegg](http://www.genome.ad.jp/kegg); [www.genome.ornl.gov](http://www.genome.ornl.gov)

**Aulas:**

**Local:** ICB II (térreo do anexo didático)

Teóricas: Anf. 2

Práticas: Laboratório B

**Horário:** Quarta-feira: 7:30 – 11 hs

**Critérios de avaliação:**

Média das notas dos Relatórios de aulas Práticas – peso 1

Média das provinhas – peso 2

Prova Modulo Básico- peso 3

Prova final – peso 4

**PROVA SUBSTITUTIVA: somente para substituir a Prova Final com atestado médico**

**DATA: 04/07/18 às 8:00 horas.**

**PROVA DE RECUPERAÇÃO: somente para os alunos com média abaixo de 5,0 e maior ou igual a 3,0 e 70% de presença. MATÉRIA TODA. DATA: 11/07/18 às 8:00 horas (a confirmar)**

**PRÁTICA 7****Isolamento e quantificação de bacteriófagos**

**Objetivo:** Observar lise bacteriana decorrente de infecção viral e quantificação das partículas

**Materiais:**

- **Meio LB:** 20 g de meio LB, 08 g de Agar Bacteriologico, água ultrapura q.s.p 1L.
- **Top Agar:** 10 g de Bacto-triptona, 1 g de Bacto-extrato de levedura, 8 g de Bacto-agar, 8 g de NaCl, 5 mM de CaCl<sub>2</sub>, 0,2% de glucose. Dissolver em Água ultrapura (q.s.p. 1 litro).
- **Solução de cálcio-magnésio (MC):** MgSO<sub>4</sub> 0,1 M e CaCl<sub>2</sub> 5 mM

**Preparação do lisado de fago P1**

1. Cultivar uma cultura de *E. coli* 37°C durante a noite em meio LB.
2. Diluir a suspensão bacteriana a 1: 100 em 10 ml de meio LB contendo 5 mM de CaCl<sub>2</sub> e 0,2% de glucose.
3. Crescer as bactérias novamente a 37°C até obter densidade óptica no comprimento de onda de 600 nm (OD<sub>600</sub>) em torno de 0,3 a 0,5. Então adicionar 0,1 a 0,2 ml de um lisado de P1.
4. Aerar as células durante 2-3 horas a 37 ° C (observar a formação de lise);
5. Adicionar 100 µl de clorofórmio e vórtexar. Transferir o sobrenadante para um novo tubo, adicionar 100 µl de clorofórmio ao lisado e armazenar no frio.

**Titulação do lisado**

1. Adicionar 100 µl de uma suspensão de *E. coli* cultivada durante a noite a 3-4 ml de Top-ágar fundido (mantido a ± 45 ° C). Colocar imediatamente a mistura sobre uma placa contendo ágar LB.
2. Diluir os fagos (até 10<sup>-8</sup>) em solução MC;
3. Aplicar uma gota de 10 µl de cada diluição sobre o Top-ágar contendo as bactérias. Incliná-la para cerca de 45° até que as gotas escorram para outra extremidade da placa.
4. Deixar a placa secar e incubar durante 6-12 h a 37 °C.
5. Contar as placas e calcular a concentração de fagos no lisado (Unidades Formadoras de Placa/volume)

$$\frac{UFP}{mL} = \text{no. de placas de lise} \times \text{inverso da diluição}$$