

Nutrição bacteriana

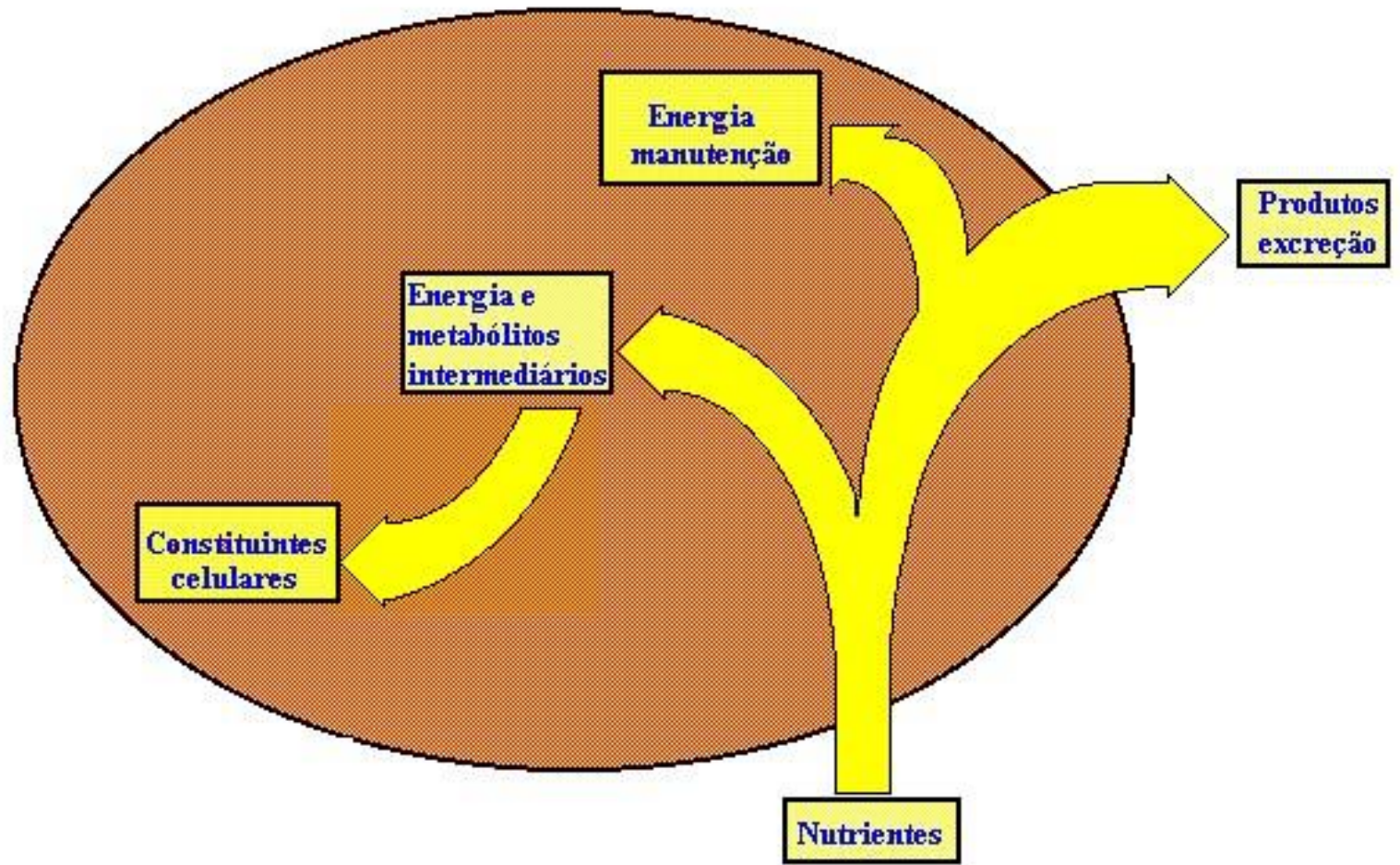
José Gregório Cabrera Gomez
jgcgomez@usp.br



DEPARTAMENTO DE

MICro**B**iologia

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



Envelope

Pili

Proteins

Outer membrane

Proteins
Phospholipids
Lipopolysaccharide

Capsule

Complex polysaccharide

Wall

Peptidoglycan

Periplasm

Proteins

Cell membrane

Proteins
Phospholipids

Flagella

Proteins

Cytoplasmic contents

Nucleoid

DNA
Associated proteins

Cytoplasm

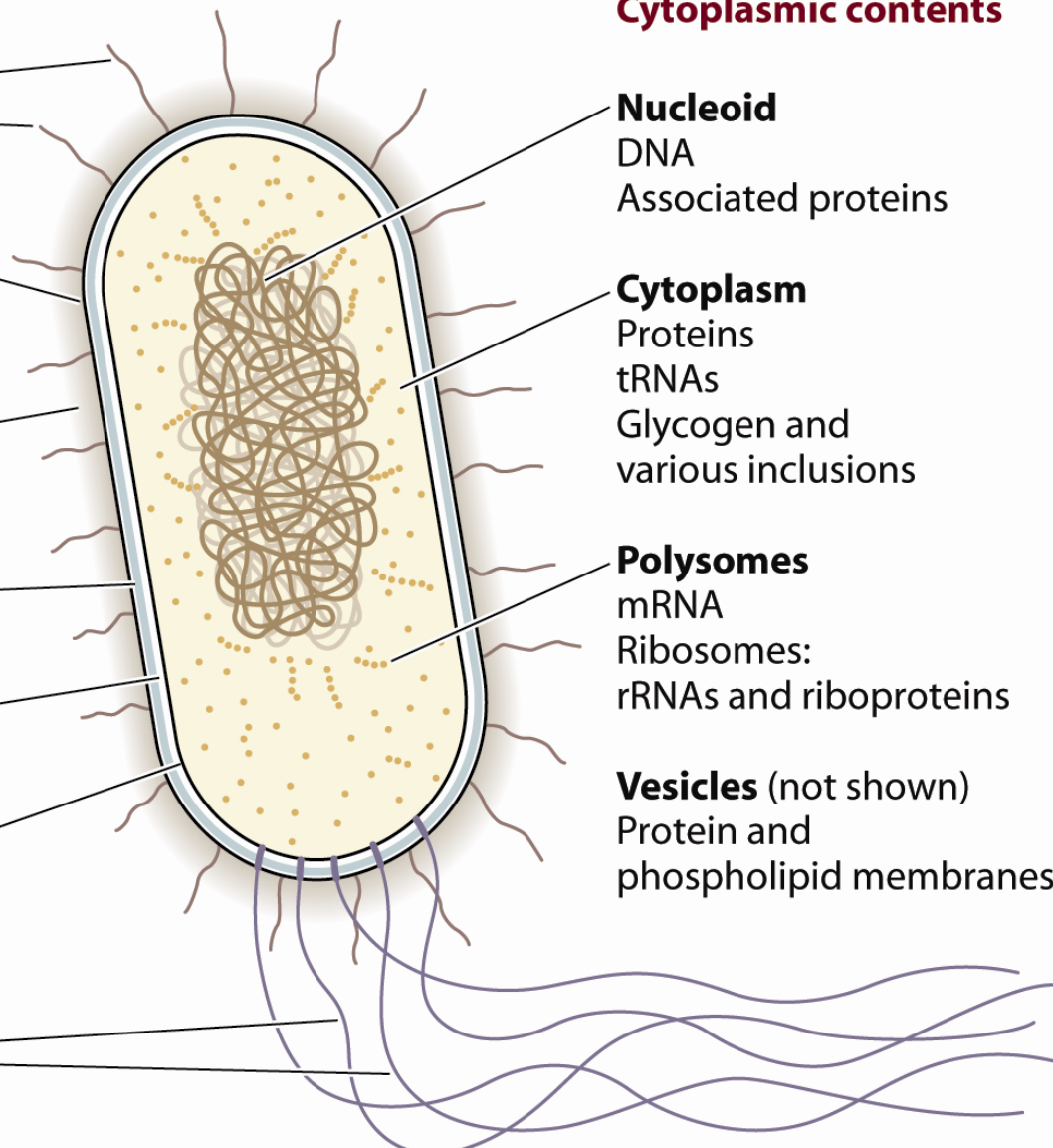
Proteins
tRNAs
Glycogen and
various inclusions

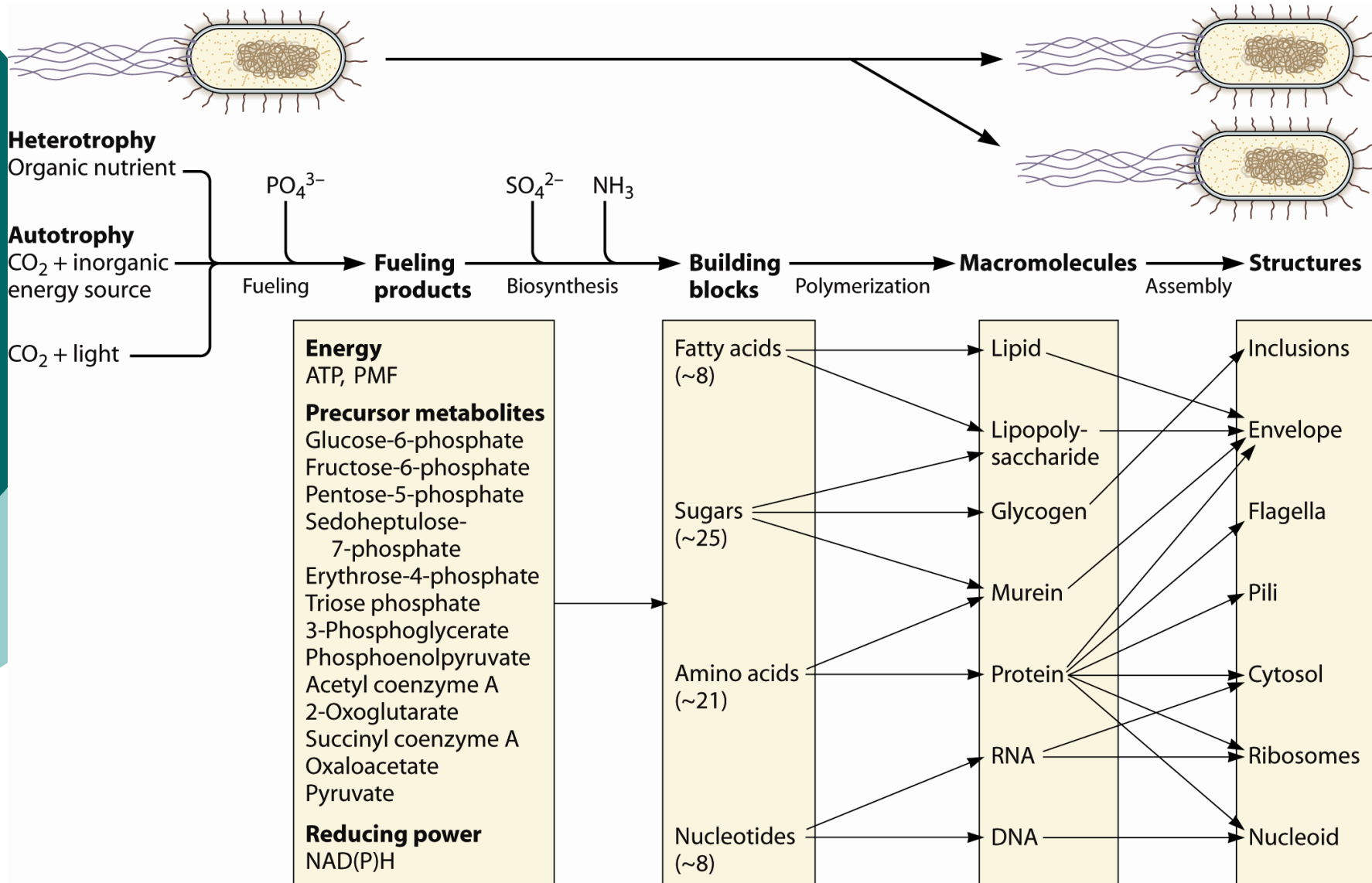
Polysomes

mRNA
Ribosomes:
rRNAs and riboproteins

Vesicles (not shown)

Protein and
phospholipid membranes





Nutrição microbiana

Quais os compostos químicos que constituem uma célula?

Table 5.1 A typical analysis of the elements that may be present in a bacterial or archaeal cell

Element	Percentage of Dry Weight
Carbon	50
Oxygen	20
Nitrogen	14
Hydrogen	8
Phosphorus	3
Sulfur	1
Sodium	1
Potassium	1
Calcium	0.5
Magnesium	0.5
Chlorine	0.5
Iron	0.25
Cu, Zn, Mo, Bo, Se,	
Ni, Cr, Co, and Wo	0.25
	100%



Nutrição microbiana

De onde as bactérias captam estes elementos?

- Do seu habitat - grande diversidade de nichos onde bactérias podem ser encontradas
- Dos meios de cultura laboratoriais quando se quer estudá-las em ambiente controlado



• O QUE É PRECISO
CONTER?
• COMO FORMULAR?

Nutrição microbiana

2. Necessidades nutricionais

- Elementos químicos como nutrientes

- Fonte de carbono
- Fonte de Nitrogênio
- Fonte de Enxofre
- Fonte de Fósforo
- Fonte de microelementos (Mg, Ca, Fe, Zn

Material plástico

Blocos construtores
da estrutura celular

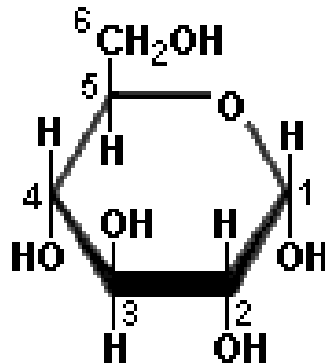
2. Necessidades nutricionais

- Elementos químicos como nutrientes
- Fonte de carbono

Orgânico	→	oxidação e geração de energia
----------	---	-------------------------------

Inorgânico	→	redução e gasto de energia
------------	---	----------------------------

Heterotróficos



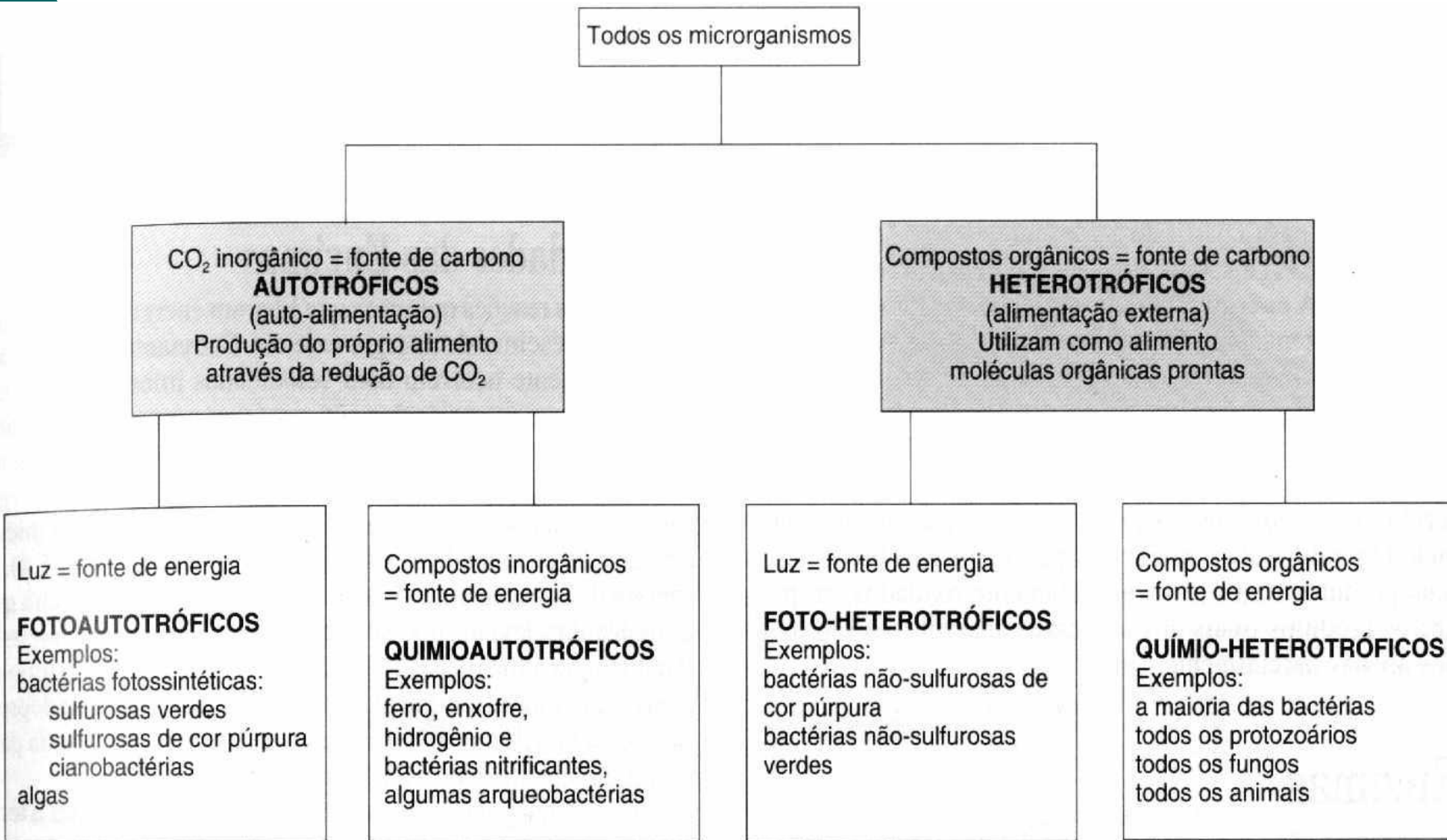
Muitas vezes é a fonte de energia

Autotróficos



Necessita fonte de energia alternativa

Fonte de carbono *versus* fonte de energia



Os principais tipos de metabolismo que captam energia.



2. Necessidades nutricionais

- Elementos químicos como nutrientes
Nitrogênio

Uso de compostos nitrogenados

inorgânicos - NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+

orgânicos- aminoácidos e peptídeos

Fixação de nitrogênio atmosférico – N_2



2. Necessidades nutricionais

- Elementos químicos como nutrientes
 - Fonte de Enxofre
 - S - aminoácidos (cisteína e metionina) e coenzimas.
 - Fontes inorgânicas – H_2S , SO_4^- , etc.
 - Fontes orgânicas – aminoácidos, coenzimas.



2. Necessidades nutricionais

Elementos químicos como nutrientes

- P - síntese de ácidos nucleicos, fosfolipídios e ATP.
- Fontes inorgânicas – PO_4^-
- Fontes orgânicas – fosfolipídios, ácidos nucleicos.

2. Necessidades nutricionais

Microelementos - necessários em quantidades menores

Cofatores de enzimas, facilitação de transporte

Mg: estabiliza ribossomos, membranas e ácidos nucleicos. Cofator de enzimas.

Ca: estabiliza peptidoglicana, constituinte dos endósporos.

Na: estabelecer pressão osmótica adequada.

Fe : citocromos, catalase e outras enzimas

Elementos-traços - Co^{++} , Mn^{++} , Zn^{++} , K^{+} , Cu^{++} , Mo^{6+}

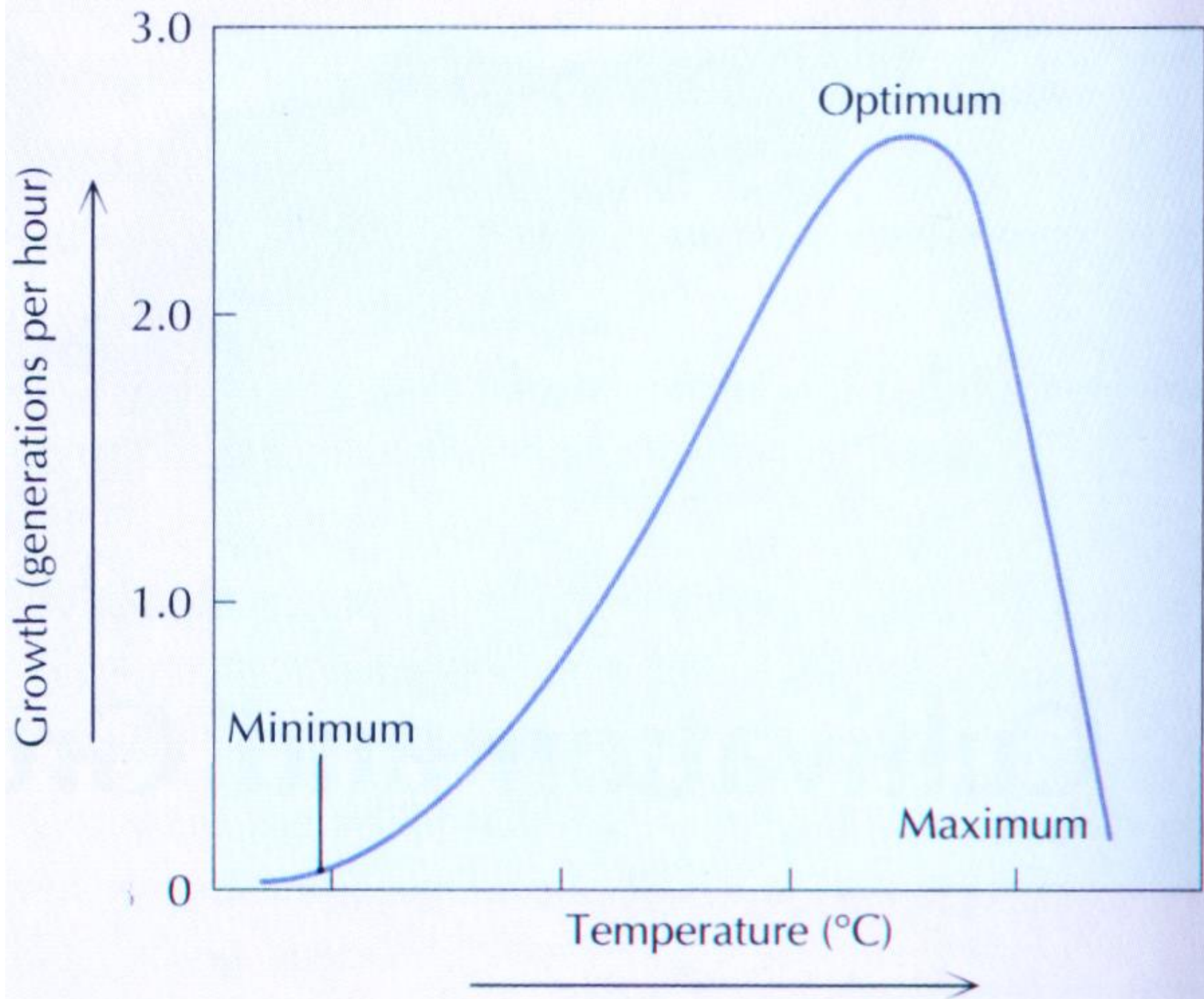


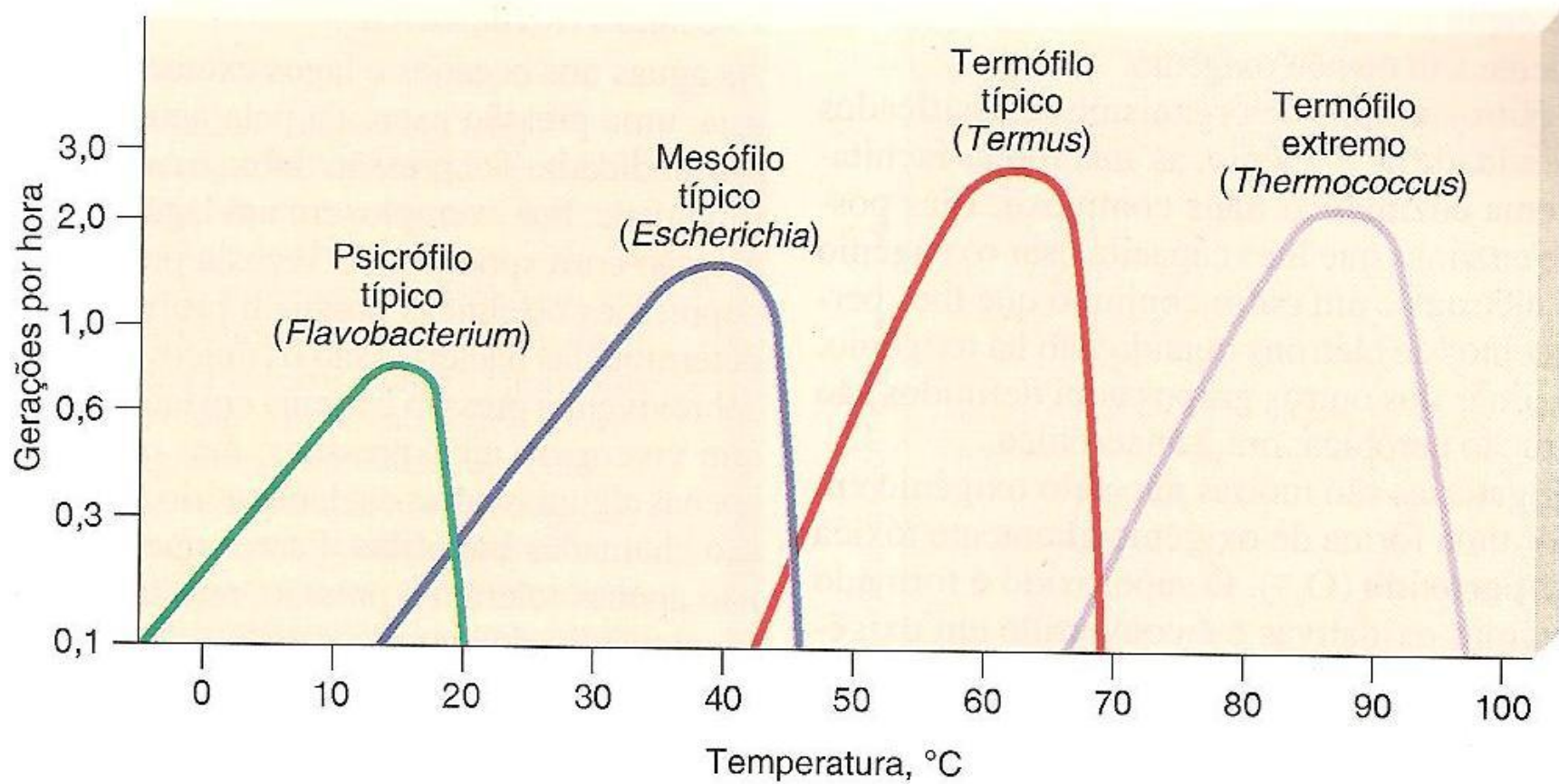
2. Necessidades nutricionais

Fatores (orgânicos) de crescimento:

Compostos orgânicos não sintetizados que devem ser supridos pelo meio.

Bactérias apresentam diferentes capacidades metabólicas. Se não possuem vias de síntese de um composto que necessita ser suprido no meio de cultura.





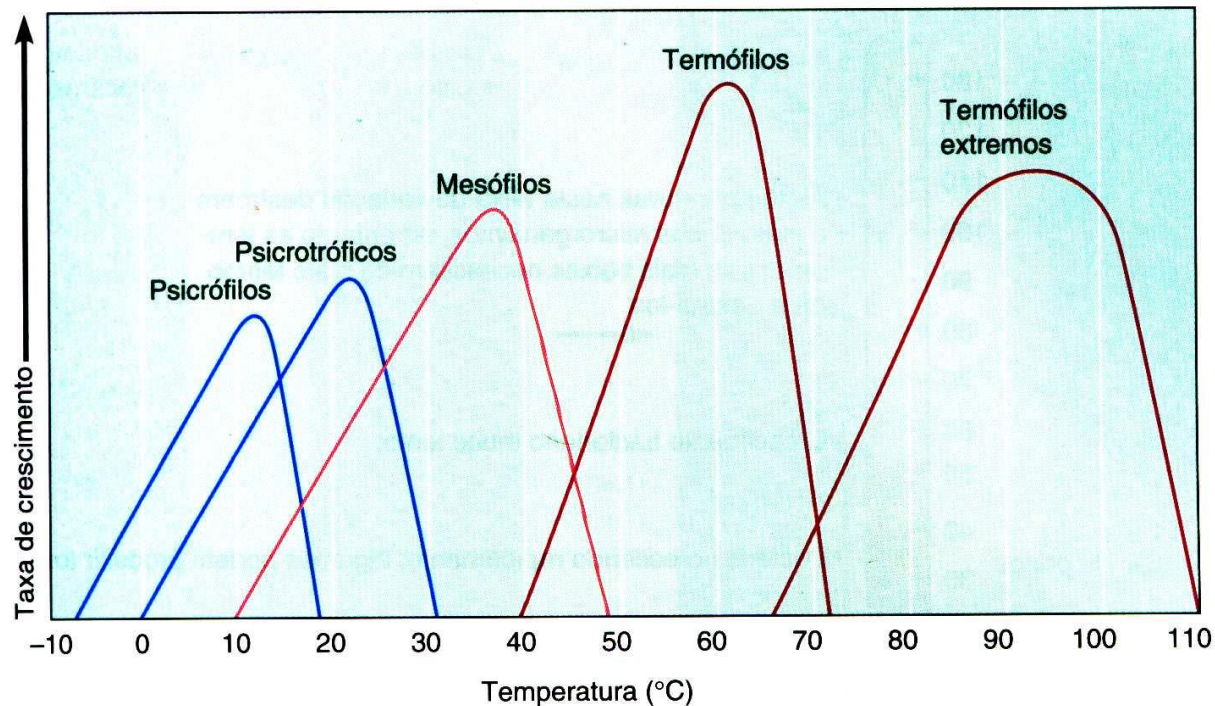


Figura 6.1 Curvas de crescimento características de diferentes microrganismos em resposta à variação na temperatura. O crescimento ótimo (reprodução mais rápida) é representado pela parte superior da curva. Observe que as velocidades de reprodução decrescem rapidamente quando a temperatura está pouco acima do ótimo. Nas variações extremas da temperatura a velocidade de reprodução é muito menor que na temperatura ótima.

Por que é difícil definir organismos psicrófilos, mesófilos ou termófilos?

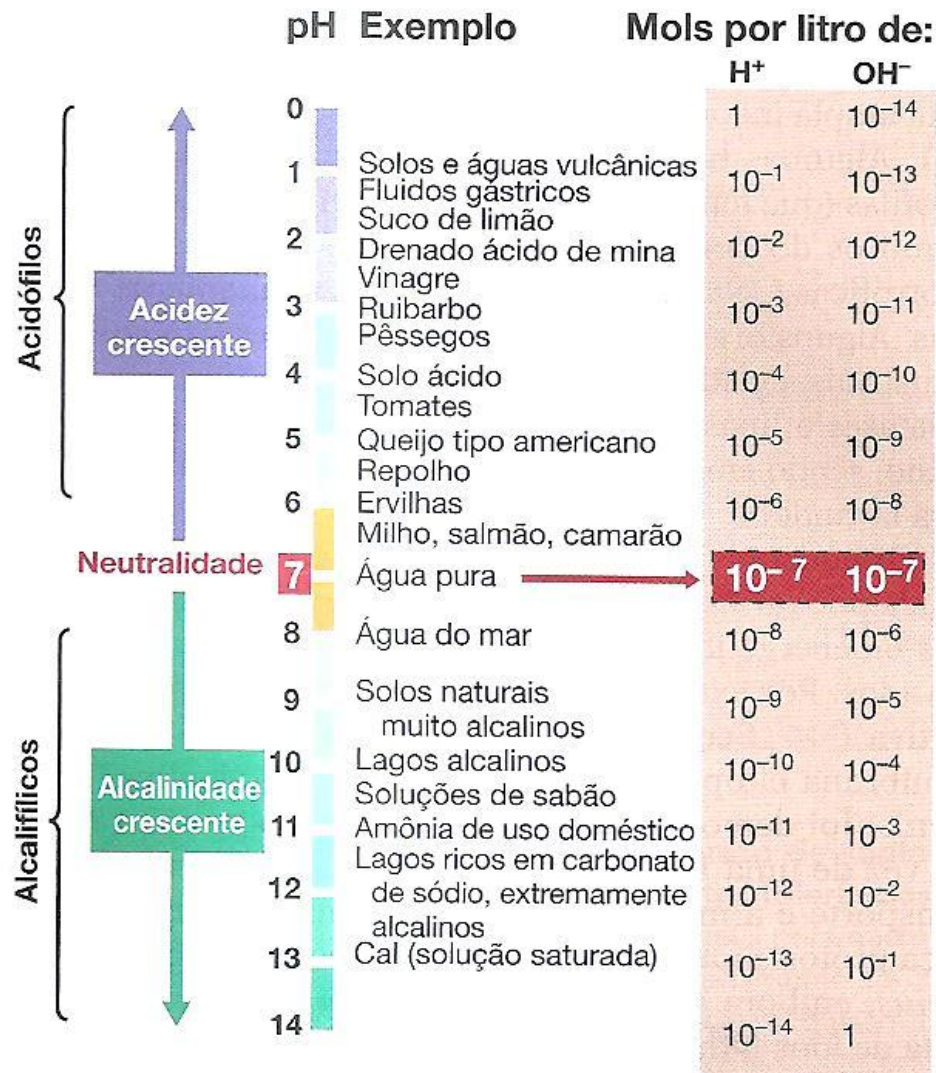


Figura 6.24 A escala de pH. Embora alguns micro-organismos sejam capazes de viver em pH muito baixo ou muito alto, o pH interno da célula permanece próximo à neutralidade.

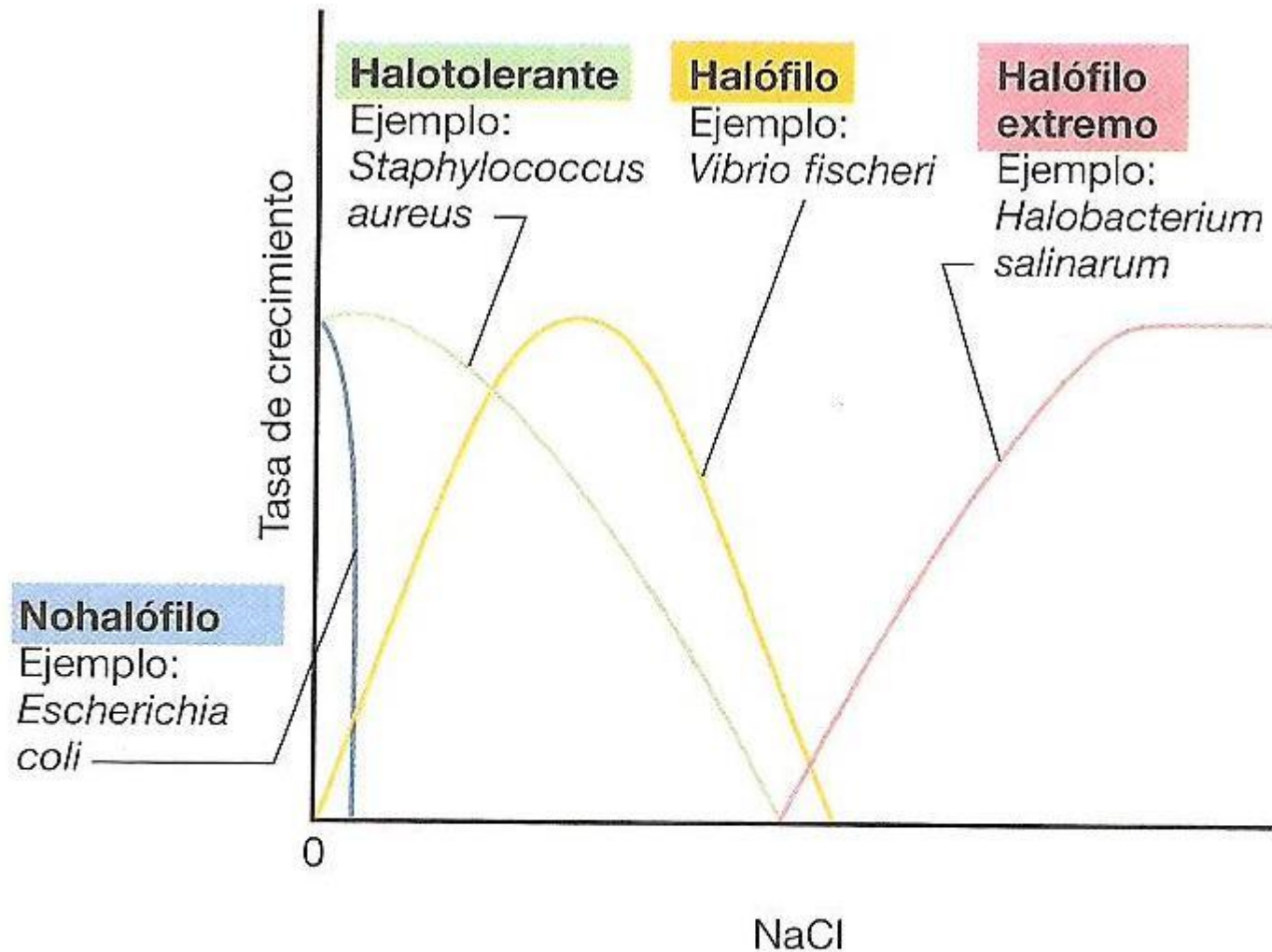
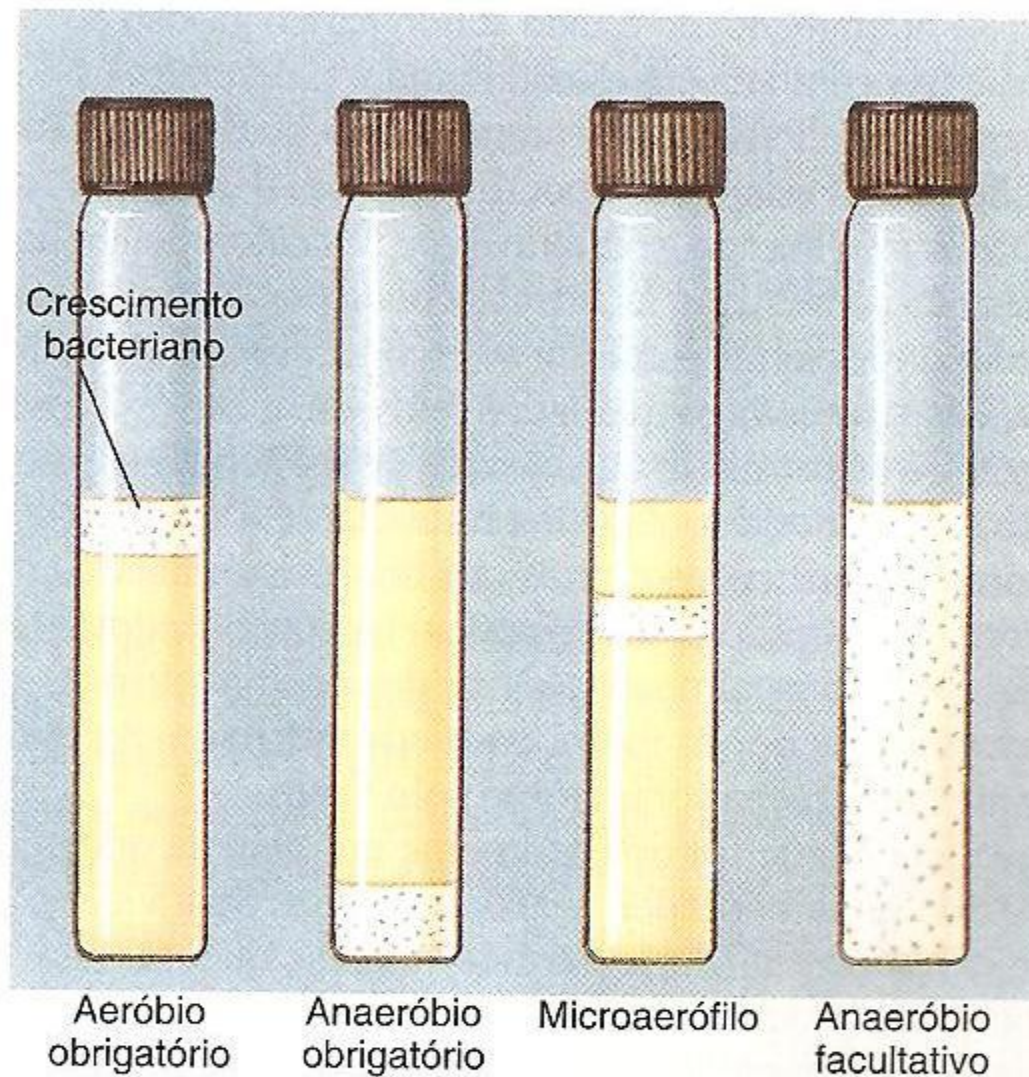


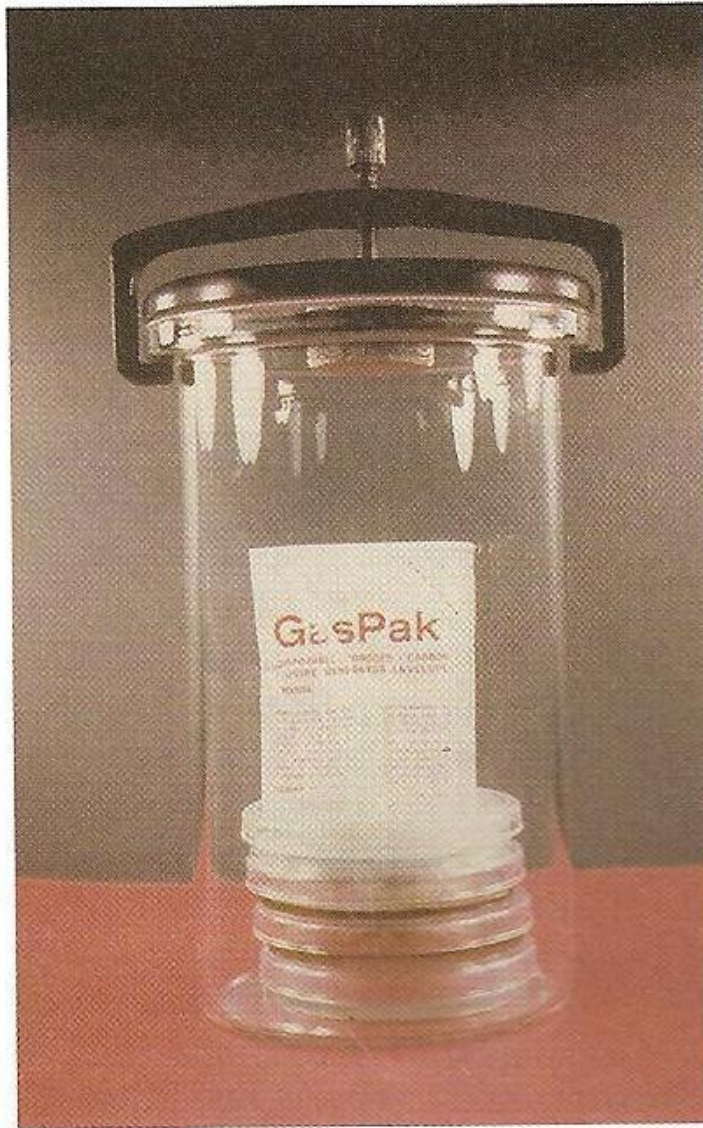
Figura 6.23 Efecto de la concentración del ion sodio sobre el crecimiento de microorganismos con diferentes tolerancias o requerimientos de sal. La concentración de NaCl óptima para microorganismos marinos como *V. fischeri* es de alrededor del 3%; para halófilos extremos está entre el 15 y el 30% dependiendo del organismo.



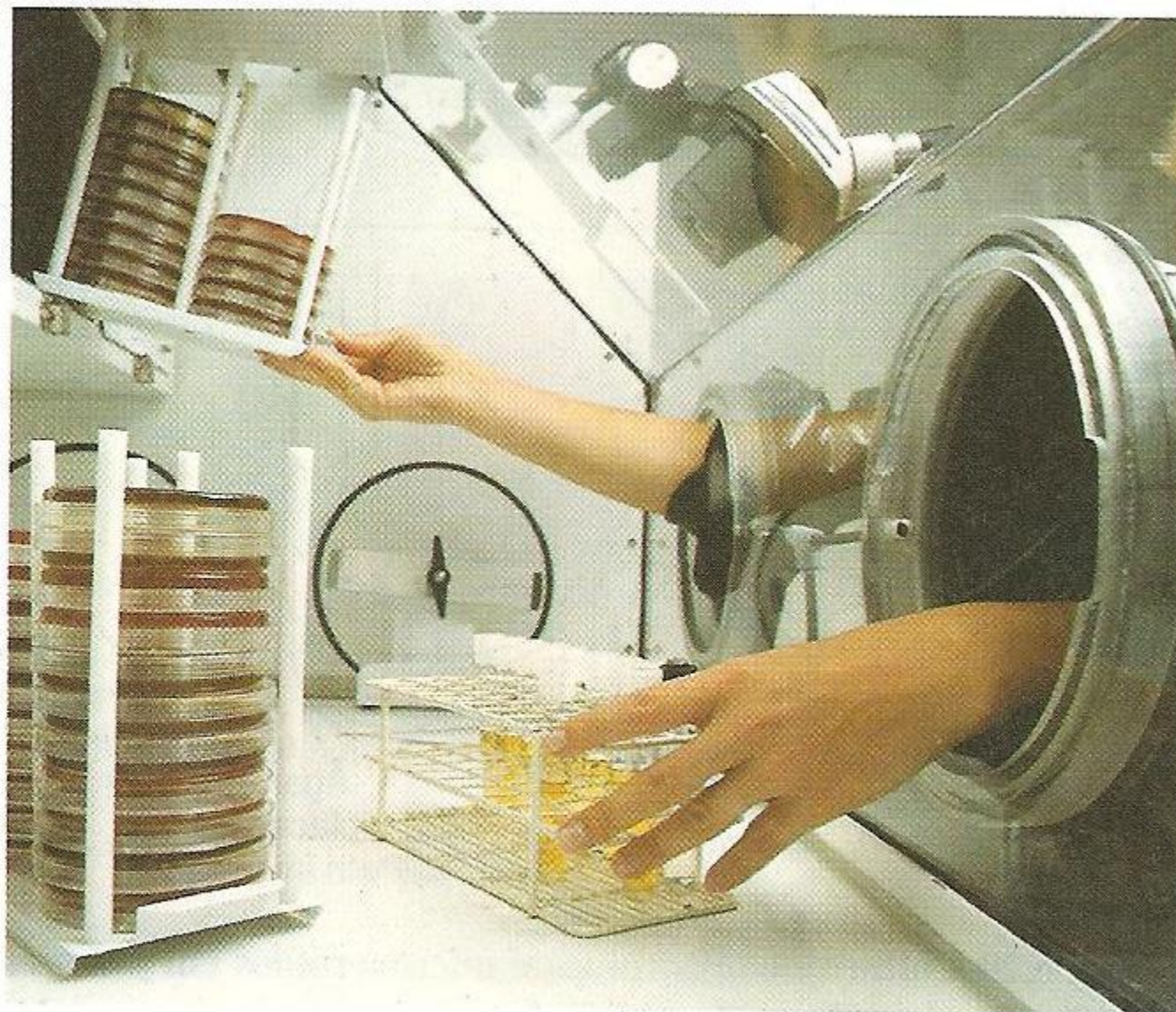
➤ **Fig. 6.15 Padrões de uso do oxigênio.** Diferentes organismos incubados por 24 horas em tubos de caldo nutritivo e acumulados em regiões diferentes, de acordo com sua necessidade ou sensibilidade em relação ao oxigênio.



➤ **Fig. 6.20 Cultura de anaeróbios e microaerófilos em jarra com vela.** Os microaerófilos estão crescendo em tubos de ensaio e em placas de Petri em uma jarra selada, onde uma vela queimou até ser apagada pelo acúmulo de dióxido de carbono na atmosfera da jarra. Uma pequena quantidade de oxigênio ainda permanece. Apesar de este método não ser mais usado, antigamente era o principal meio de fazer crescer anaeróbios.



➤ **Fig. 6.21 Incubadora de CO₂.** Quando ativados, estes reagentes químicos removem o oxigênio e são colocados junto às culturas em uma jarra lacrada para criar uma câmara anaeróbica. Este sistema é útil para um laboratório pequeno que possua apenas poucas placas a serem incubadas anaerobicamente.



➤ **Fig. 6.22 Transferência anaeróbica.** Uma grande câmara de transferência com vedação de ar para introdução de equipamentos e culturas e com aberturas que permitem a manipulação das culturas.

TIPOS DE MEIOS DE CULTURA – Definido x Complexo

Quimicamente definido: são aqueles em que a composição química é conhecida. Muitas vezes são denominados de meios sintéticos, meios minerais, meios simples.

Complexo: em sua composição apresentam componentes cuja composição pode variar ligeiramente dependendo do fabricante ou mesmo do lote de fabricação, assim, a composição exata não é conhecida.

Sólidos

Líquidos

Semi-sólidos

Exemplos de meios para cultivo de bactérias

Meio de cultura quimicamente definido para bactérias heterotróficas

Componente	Função	Quantidade
Glicose	Fonte de carbono e energia	1 g
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	Fonte de nitrogênio, tampão e íon essencial	5 g
K_2HPO_4	Tampão e íon essencial	1 g
NaCl	Íon essencial	5 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Íon essencial	0,2 g
Água	Solvente	1000 ml (q.s.p.)

Os componentes acima representam a composição mínima de um meio para bactérias não fastidiosas como uma *Escherichia coli* selvagem. Para espécies fastidiosas, tais como *Lactobacillus acidophilus*, outras substâncias como amino ácidos e vitaminas têm que ser adicionadas ao meio.

Exemplos de meios para cultivo de bactérias

33

Meio de cultura quimicamente definido para bactérias quimioautotróficas

Componente	Função	Quantidade
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Fonte de nitrogênio e energia	0,5 g
NaHCO_3	Fonte de carbono na forma de CO_2 em solução aquosa	0,5 g
Na_2HPO_4	Tampão e íon essencial	13,5 g
KH_2PO_4	Tampão e íon essencial	0,7 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Íon essencial	0,1 g
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Íon essencial	0,014 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Íon essencial	0,18 g
Água	Solvente	1000 ml (q.s.p.)

Exemplos de meios para cultivo de bactérias

35

Composição do Caldo Nutriente, um meio complexo para o crescimento de bactérias heterotróficas

Componente	Função	Quantidade
Extrato de carne	Substâncias de tecido animal solúveis em água: carboidratos, compostos orgânicos nitrogenados, vitaminas e sais	3 g
Peptona	Nitrogênio orgânico e algumas vitaminas	5 g
Cloreto de sódio	Necessidades osmótica e iônica	8 g
Água	Solvente	1000 ml (q.s.p.)

Se o meio sólido for necessário, 18 g de ágar é adicionado e o meio é denominado Ágar Nutriente.



TIPOS DE MEIOS DE CULTURA – Seletivo x Diferencial

Seletivo: São preparados de forma a favorecer o crescimento do microrganismo de interesse, impedindo o crescimento de outros.

Diferencial: O microrganismo de interesse apresenta um crescimento característico nestes meios permitindo sua fácil diferenciação em relação a outros.

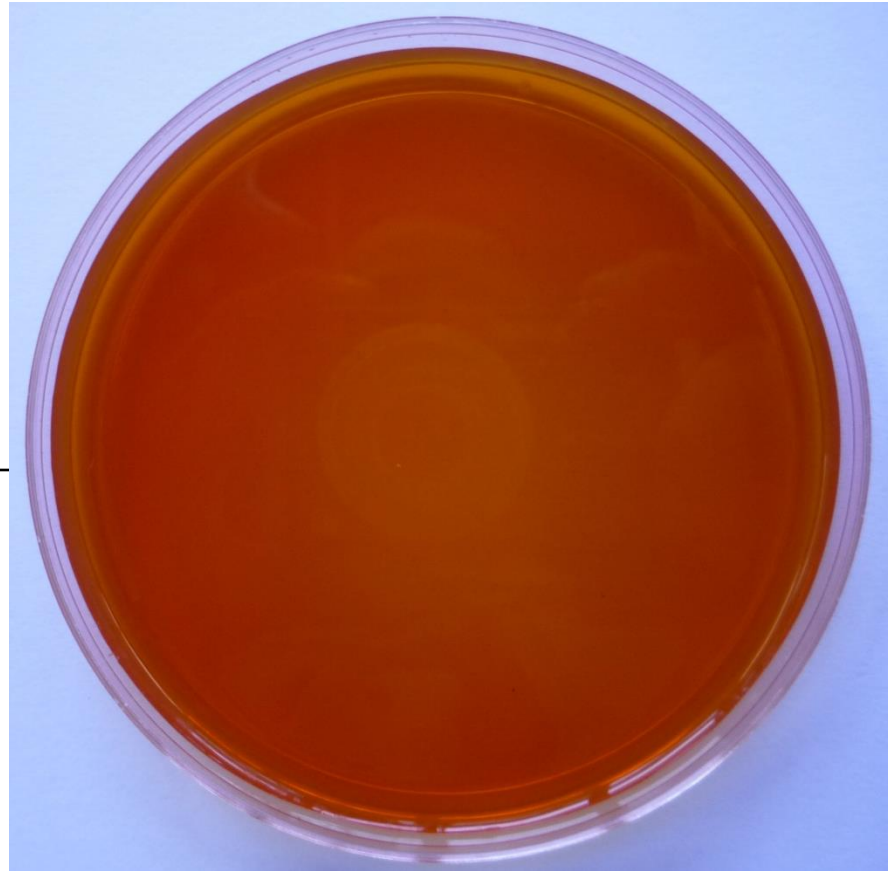


Componentes	<i>E. coli</i>	<i>L. mesenteroides</i>	<i>E. coli e L. mesenteroides</i>
K₂HPO₄	7	0,6	-
KH₂PO₄	2	0,6	2
(NH₄)₂SO₄	1	3	-
MgSO₄	0,1	0,1	-
CaCl₂	0,02	-	-
Glicose	10	25	15
Acetato	-	25	-
Elementos traços^a	10 microgramas cada	10 microgramas cada	-
Aminoácidos	-	20 diferentes	-
nucleotídeos	-	4 diferentes	-
Vitaminas	-	10 diferentes	-
pH	7,0	7,0	7,0

a. Fe, Co, Mn, Zn, Cu, Ni, Mo.

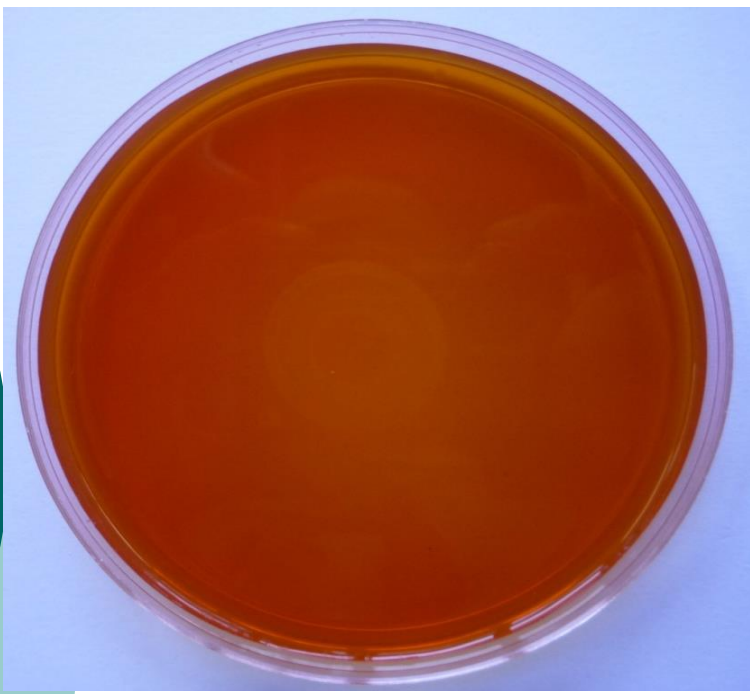
Ágar Verde Brilhante - g/L

Proteose peptone	10
Extrato de levedura	3
Lactose	10
Sacarose	10
Cloreto de sódio	5
Vermelho de fenol	0,08
Verde brilhante	0,0125
Ágar	13
pH 6,5 ±	

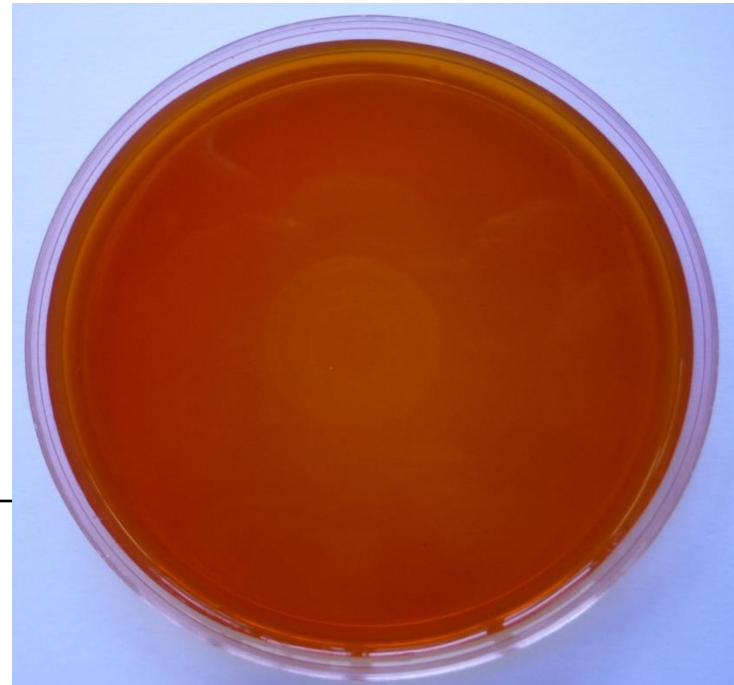


Vermelho de fenol 6,4 – 8,2 Amarelo – vermelho

S.aureus



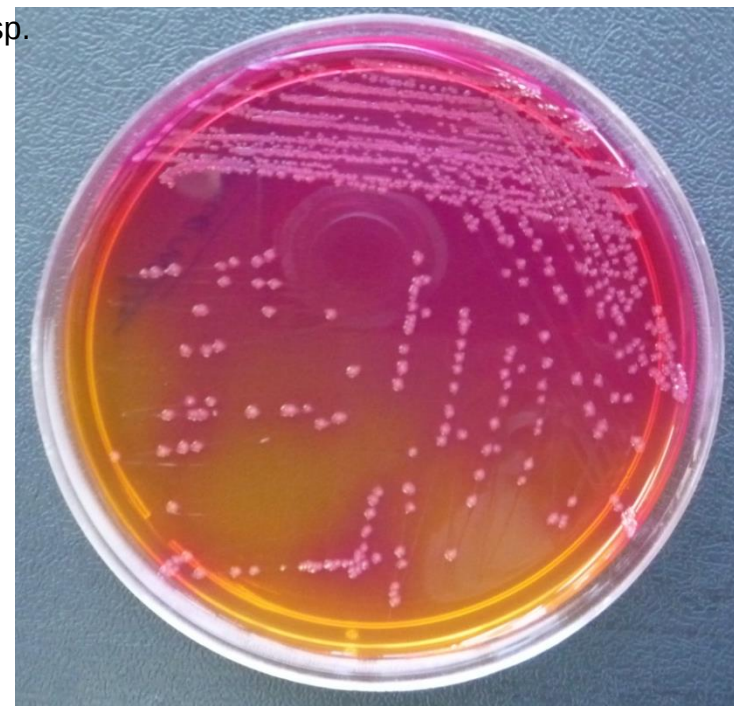
V.cholerae



E.coli

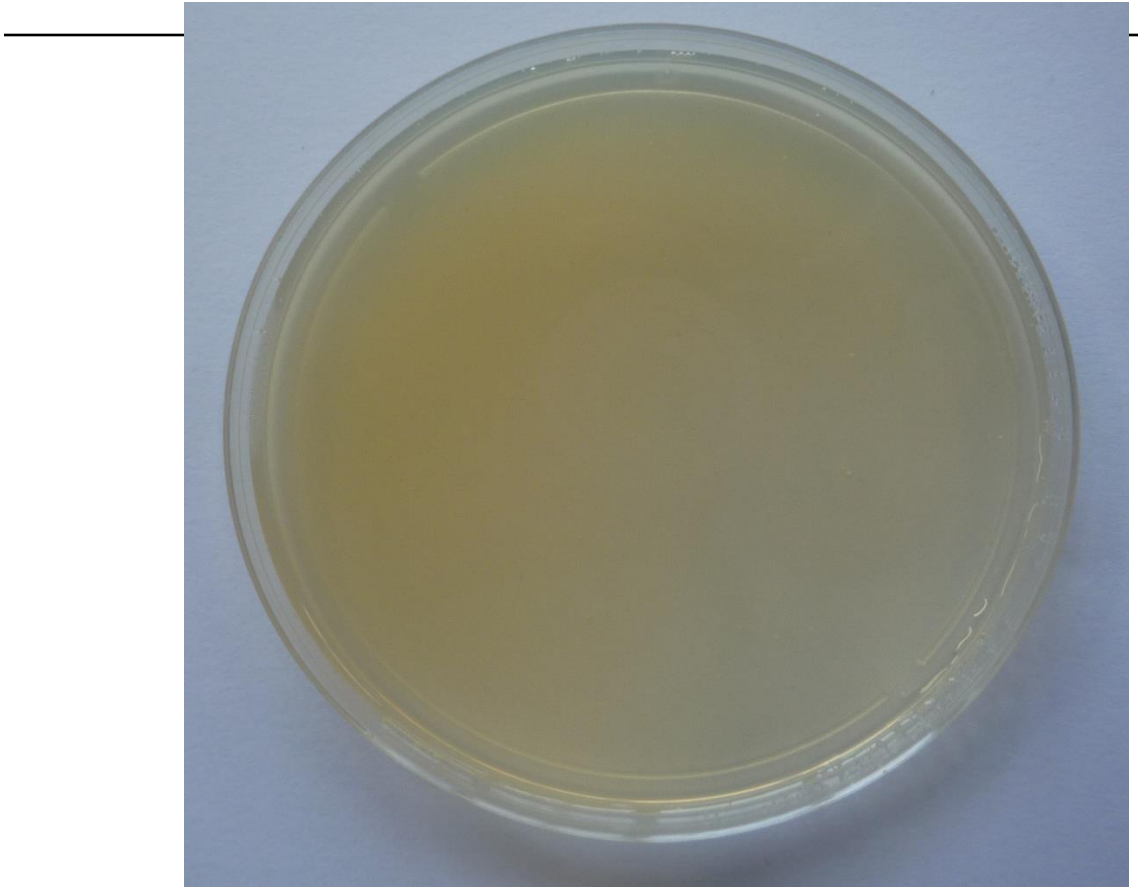


Salmonella sp.

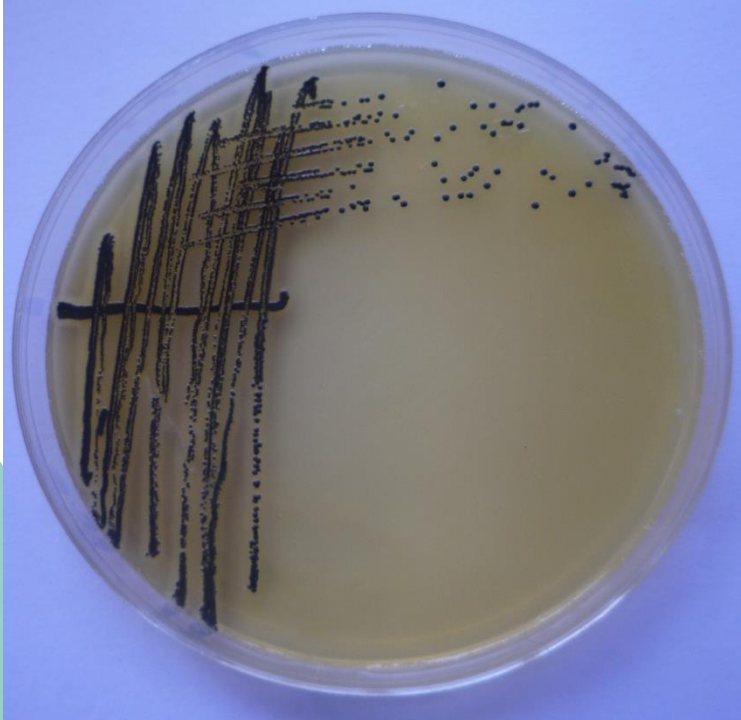


Baird-Parker - g/L

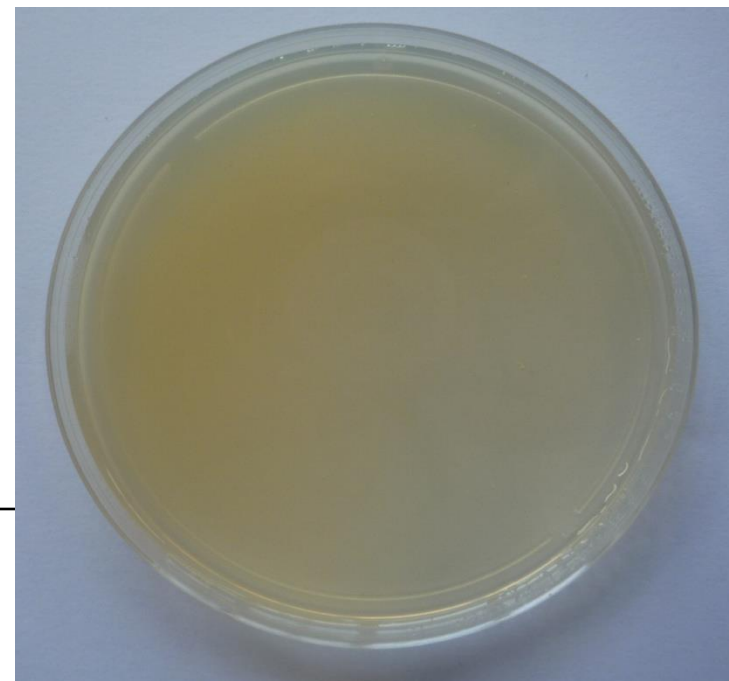
Triptona	10
Extrato de carne	5
Extrato de levedura	1
Piruvato de Sódio	10
Glicina	12
Cloreto de lítio	5
Emulsão de gema de ovo	
Telurito de potássio	0,05
Agar	15
pH 6,8 ± 0,2 a 25°C	



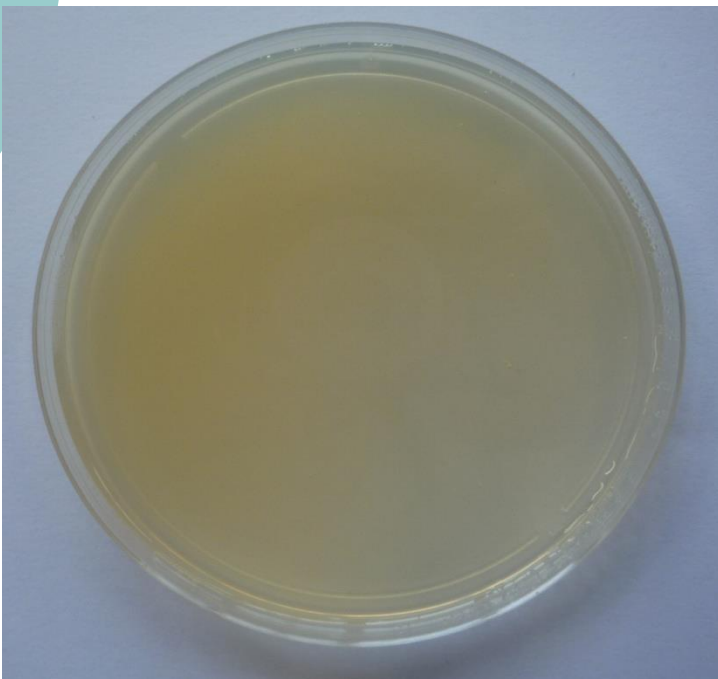
S.aureus



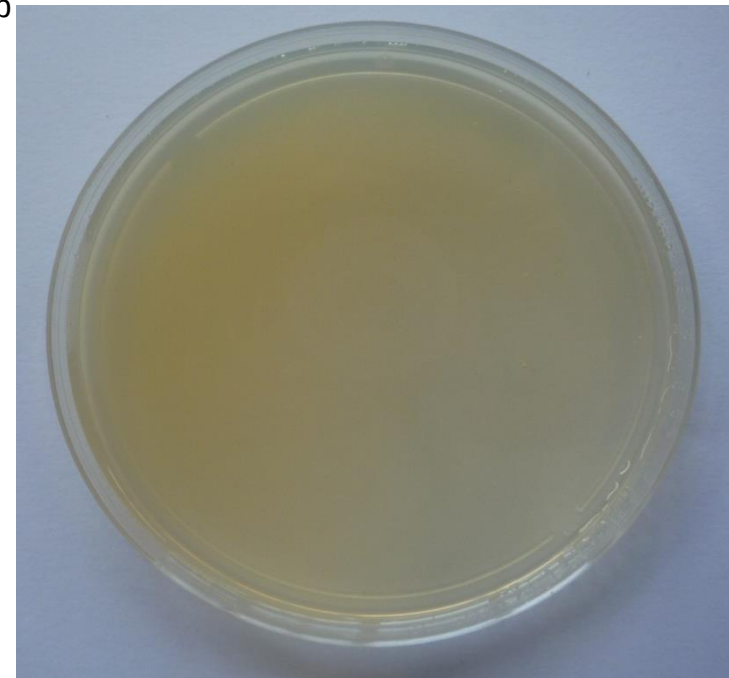
V.cholerae



E.coli



Salmonella sp



Ágar MacConkey / g/L

Peptona	20
Lactose	10
Sais biliares	1,5
Cloreto de sódio	5
Vermelho Neutro	0,05
Cristal violeta	0,001
Ágar	13,5
pH 7,1 ± 0,2 a 25°C	



Vermelho Neutro 6,8 – 8,0 Vermelho – amarelo

S.aureus



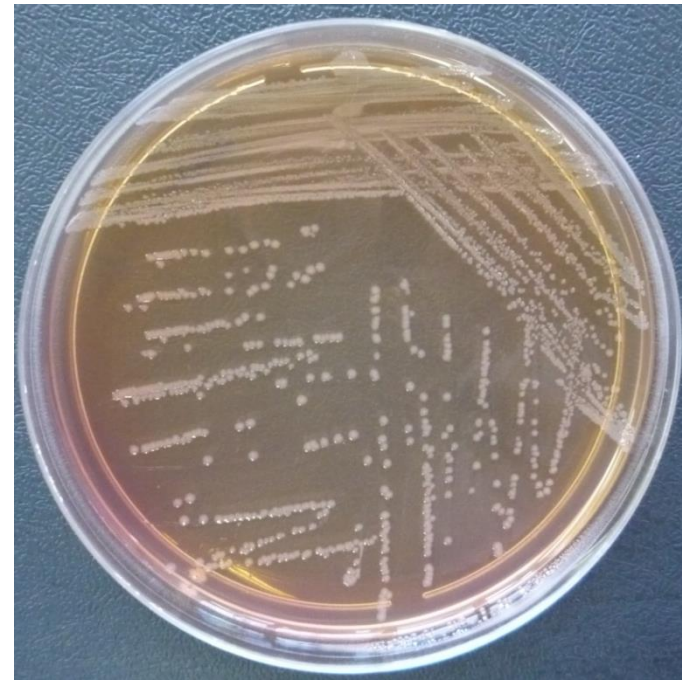
V.cholerae



E.coli



Salmonella sp.



Vermelho Neutro 6,8 – 8,0 Vermelho – amarelo



José Gregório Cabrera Gomez
jgcgomez@usp.br



DEPARTAMENTO DE
MICro**B**iologia
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO