



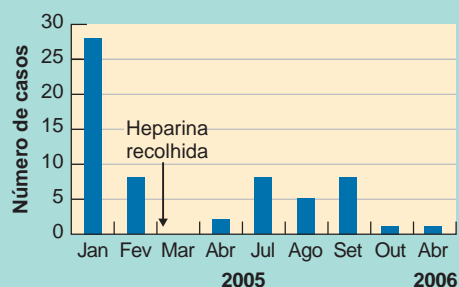
## Infecção sanguínea após cateterização

Neste quadro você encontrará uma série de questões que os agentes de controle de infecção se perguntam quando tentam descobrir a fonte de uma infecção. Tente responder cada questão antes de passar à próxima.

1. No início de março, uma solução intravenosa de heparina foi recolhida após pacientes de quatro estados ter desenvolvido infecções sanguíneas por *Pseudomonas fluorescens*.

**Após examinar a Figura A, você considera que o recolhimento foi eficiente?**

2. Três meses após o recolhimento, pacientes em dois estados diferentes desenvolveram infecções sanguíneas.
3. A última exposição à heparina contaminada foi de 84 a 421 dias antes do começo das infecções. Esses pacientes não desenvolve-



**Figura A** Ocorrência de infecções sanguíneas por *P. fluorescens* em pacientes com cateteres intravenosos.

ram infecções durante o episódio de janeiro a fevereiro. Todos os pacientes tiveram cateteres venosos; esses tubos são inseridos em uma veia para administração a longo prazo de soluções concentradas, como drogas anticancerosas.

**Qual é o próximo passo?**

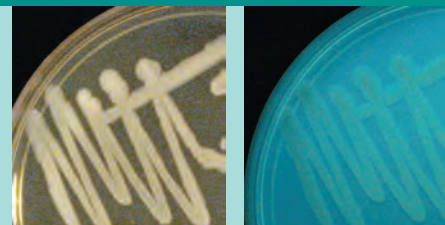
4. Investigações locais confirmaram que as clínicas dos pacientes não usavam mais e tinham devolvida a heparina recolhida. Culturas da nova heparina utilizada não recuperaram organismos.

**O que fazer a seguir?**

5. Culturas sanguíneas e dos cateteres foram feitas (Figura B).
6. *P. fluorescens* foi cultivado de 15 pacientes e 17 cateteres. Estes foram os primeiros casos conhecidos de infecções sanguíneas substancialmente retardadas (84 a 421 dias) após exposição a uma solução intravenosa contaminada.

**Qual foi a fonte das infecções?**

7. Microscopia eletrônica de varredura no Centro para Controle e Prevenção de Doenças mostrou que *P. fluorescens* colonizou o interior dos cateteres pela formação de biofilmes; estudos prévios de microscopia eletrônica indicaram que praticamente todos os cateteres vasculares ficam colonizados por micro-organismos encaixados em uma camada de biofilme. A heparina foi descrita como estimulante da formação de biofilme.



Iluminado com luz branca

Iluminado com luz ultravioleta

**Figura B.** *P. fluorescens* é um bastonete aeróbico gram-negativo que cresce melhor em temperaturas de aproximadamente 25 a 30°C e cresce pouco na temperatura de incubação padrão das estufas microbiológicas hospitalares (cerca de 36°C). As bactérias produzem um pigmento que aparece fluorescente sob luz ultravioleta.

**Por que *P. fluorescens* causa infecção em uma média de 237 dias após exposição à heparina contaminada?**

8. Embora *P. fluorescens* possa não ter entrado na circulação sanguínea dos pacientes em quantidades suficientes para causar sintomas na exposição inicial à heparina contaminada, a formação do biofilme permitiu às bactérias persistir nos cateteres. As bactérias podem ter proliferado no biofilme, tendo sido retiradas pelas soluções intravenosas não contaminadas subsequentes e liberadas na corrente sanguínea, causando finalmente os sintomas.

Fonte: adaptado do *MMWR* 55 (35): 961-963 (8/9/06).

## Meio de cultura

### OBJETIVOS DO APRENDIZADO

- 6-8 Diferenciar os meios quimicamente definido e complexo.
- 6-9 Justificar a utilização dos seguintes itens: técnicas anaeróbicas, células hospedeiras vivas, jarras com velas, meios seletivos e diferenciais e meio de enriquecimento.
- 6-10 Diferenciar os níveis de biossegurança 1, 2, 3 e 4.

O material nutriente preparado para o crescimento de micro-organismos em um laboratório é chamado de **meio de cultura**. Algumas bactérias podem crescer bem em qualquer meio de cultura; outras requerem meios especiais, e outras ainda não podem crescer em qualquer dos meios não vivos até agora desenvolvidos. Os micro-organismos introduzidos em um meio de cultura para iniciar o

crescimento são chamados de **inóculo**. Os micro-organismos que crescem e se multiplicam dentro ou sobre um meio de cultura são denominados **cultura**.

Supondo que queremos cultivar determinado micro-organismo, talvez de uma amostra clínica em particular, que critérios o meio de cultura deve apresentar? Primeiro, ele deve conter os nutrientes adequados para o micro-organismo específico que queremos cultivar. Ele deve conter também uma quantidade de água suficiente, um pH apropriado e um nível conveniente de oxigênio ou talvez nenhum. O meio deve ser **estéril** – isto é, deve inicialmente não conter micro-organismos vivos – dessa forma a cultura conterá somente os micro-organismos (e sua descendência) que foram introduzidos. Finalmente, a cultura em crescimento deve ser incubada em temperatura apropriada.

Uma grande variedade de meios está disponível para o crescimento de micro-organismos no laboratório. A maioria desses meios, que estão disponíveis de fontes comerciais, tem componentes pré-misturados e requer somente a adição de água e a esterilização. Meios são constantemente desenvolvidos ou atualizados para utilização no isolamento e na identificação de bactérias que são de interesse para os pesquisadores em campos como a microbiologia de alimentos, de água e clínica.

Quando se deseja o crescimento das bactérias em meio sólido, um agente solidificante como o ágar é adicionado ao meio. Um polissacarídeo complexo derivado de uma alga marinha, o **ágar** tem sido utilizado há muito tempo para deixar alimentos como geleias e sorvetes mais espessos.

O ágar tem algumas propriedades muito importantes que o tornam valioso em microbiologia, nunca tendo sido encontrado um substituto satisfatório. Poucos micro-organismos podem degradar o ágar, o que permite que ele permaneça sólido. Além disso, o ágar se liquefaz a cerca de 100°C (o ponto de ebulição da água) e ao nível do mar ele permanece líquido até a temperatura diminuir até cerca de 40°C. Para utilização no laboratório, o ágar é mantido em banho-maria a 50°C. Nessa temperatura, ele não destrói a maioria das bactérias quando adicionado sobre elas (como mostrado na Figura 6.17a, página 176). Uma vez solidificado, ele pode ser incubado a cerca de 100°C antes de se liquefazer de novo; essa propriedade é particularmente útil quando bactérias termófilas são cultivadas.

Os meios com ágar geralmente são contidos em tubos de ensaio ou *placas de Petri*. Os tubos de ensaio são chamados de *inclinados* quando a solidificação é feita com o tubo inclinado em um ângulo de modo que uma grande área de superfície esteja disponível para o crescimento. Quando o ágar é solidificado em um tubo mantido na vertical, ele é chamado de *profundo*. As placas de Petri, denominadas em homenagem a seu inventor, são placas rasas com uma tampa que as recobre até o fundo para evitar contaminações; quando preenchidas, são chamadas de culturas sólidas em *placas de Petri*.

## Meio quimicamente definido

Para sustentar o crescimento microbiano, um meio deve fornecer uma fonte de energia, assim como fontes de carbono, nitrogênio, enxofre, fósforo e quaisquer outros fatores orgânicos de crescimento que o organismo seja incapaz de sintetizar. Um **meio quimicamente definido** é aquele cuja composição exata é conhecida. Para um quimio-heterotrófico, o meio quimicamente definido deve conter fatores de crescimento orgânicos que servem como fonte de carbono e energia. Por exemplo, como mostrado na **Tabela 6.2**, a glicose é incluída no meio para crescimento do quimio-heterotrófico *E. coli*.

Como a **Tabela 6.3** mostra, muitos fatores de crescimento orgânicos devem ser fornecidos no meio quimicamente definido utilizado para cultivar uma espécie de *Neisseria* (página 306). Os organismos que requerem muitos fatores de crescimento são descritos como *fastidiosos*. Organismos desse tipo, como os *Lactobacillus* (página 318), algumas vezes são utilizados em testes que determinam a concentração de uma vitamina específica em uma substância. Para a realização de um *ensaio microbiológico* desse tipo, um meio de cres-

**Tabela 6.2**

**Meio quimicamente definido para o crescimento de um quimio-heterotrófico típico como *Escherichia coli***

Componentes	Quantidades
Glicose	5,0 g
Fosfato de amônio, monobásico (NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> FO <sub>4</sub> )	1,0 g
Cloreto de sódio (NaCl)	5,0 g
Sulfato de magnésio (MgSO <sub>4</sub> -7H <sub>2</sub> O)	0,2 g
Fosfato de potássio, dibásico (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	1,0 g
Água	1 litro

cimento é preparado com todos os fatores de crescimento exceto a vitamina a ser testada. Então, o meio, a substância a ser testada e a bactéria são combinados, e o crescimento da bactéria é mensurado. Esse crescimento microbiano, que é refletido pela quantidade de ácido láctico produzida, será proporcional à quantidade de vitamina na substância testada. Uma quantidade de ácido láctico maior significa que mais células de *Lactobacillus* foram capazes de crescer, e portanto maior quantidade de vitamina era presente.

## Meio complexo

Os meios quimicamente definidos geralmente são reservados para trabalhos experimentais no laboratório ou para o crescimento de bactérias autotróficas. A maioria das bactérias e dos fungos, como aqueles analisados em um curso de introdução ao laboratório, é cultivada rotineiramente em **meios complexos** feitos de nutrientes como extratos de leveduras, de carnes ou de plantas, ou produtos de digestão destas ou de outras fontes. A composição química exata varia um pouco de acordo com o lote. A **Tabela 6.4** mostra uma formulação muito utilizada.

Nos meios complexos, as necessidades de energia, carbono, nitrogênio e enxofre dos micro-organismos em cultura são fornecidas essencialmente pelas proteínas. Uma proteína é uma molécula grande e relativamente insolúvel que alguns micro-organismos podem utilizar diretamente, mas uma digestão parcial por ácidos ou enzimas reduz a proteína em cadeias de aminoácidos mais curtas chamadas de *peptonas*. Esses fragmentos pequenos e solúveis podem ser digeridos pela maioria das bactérias.

Vitaminas e outros fatores orgânicos de crescimento são fornecidos pelos extratos de carne e de levedura. As vitaminas solúveis e os minerais das carnes e das leveduras são dissolvidos na água de extração, que é então evaporada para concentrar esses fatores. (Esses extratos também fornecem nitrogênio orgânico e compostos de carbono.) Os extratos de levedura são particularmente ricos em vitaminas B. Se um meio complexo apresenta forma líquida, ele é chamado de **caldo nutriente**. Quando ágar é adicionado, ele é chamado de **ágar nutriente**. (Essa terminologia pode ser confusa. Deve-se ressaltar que somente o ágar em si não é um nutriente.)

Tabela 6.3

Meio quimicamente definido para o crescimento de uma bactéria quimio-heterotrófica fastidiosa como *Neisseria gonorrhoeae*

Componentes	Quantidades	Componentes	Quantidades
<b>Fontes de Carbono e Energia</b>		<b>Aminoácidos</b>	
Glicose	9,1 g	Cisteína	1,5 g
Amido	9,1 g	Arginina, prolina (cada)	0,3 g
Acetato de sódio	1,8 g	Ácido glutâmico, metionina (cada)	0,2 g
Citrato de sódio	1,4 g	Asparagina, isoleucina, serina (cada)	0,2 g
Oxaloacetato	0,3 g	Cistina	0,06 g
<b>Sais</b>		<b>Fatores Orgânicos de Crescimento</b>	
Fosfato de potássio, dibásico ( $K_2HPO_4$ )	12,7 g	Pantotenato de cálcio	0,02 g
Cloreto de sódio (NaCl)	6,4 g	Tiamina	0,02 g
Fosfato de potássio, monobásico ( $KH_2PO_4$ )	5,5 g	Nicotinamida adenina dinucleotídeo	0,01 g
Bicarbonato de sódio ( $NaHCO_3$ )	1,2 g	Uracila	0,006 g
Sulfato de potássio ( $K_2SO_4$ )	1,1 g	Biotina	0,005 g
Sulfato de sódio ( $Na_2SO_4$ )	0,9 g	Hipoxantina	0,003 g
Cloreto de magnésio ( $MgCl_2$ )	0,5 g	<b>Agente Redutor</b>	
Cloreto de amônio ( $NH_4Cl$ )	0,4 g	Tioglicolato de sódio	0,00003 g
Cloreto de potássio (KCl)	0,4 g	<b>Água</b>	
Cloreto de cálcio ( $CaCl_2$ )	0,006 g	1 litro	
Nitrato de ferro [ $Fe(NO_3)_3$ ]	0,006 g		

Fonte: R. M. Atlas, *Handbook of Microbiological Media*, Ann Arbor, MI: CRC Press, 1993.

Tabela 6.4

Composição do ágar nutriente: um meio complexo para o crescimento de bactérias heterotróficas

Componentes	Quantidades
Peptona (proteína parcialmente digerida)	5,0 g
Extrato de carne	3,0 g
Cloreto de sódio	8,0 g
Ágar	15,0 g
Água	1 litro

## Meios e métodos para o crescimento anaeróbico

A cultura de bactérias anaeróbicas apresenta um problema particular. Como os anaeróbicos podem ser mortos pela exposição ao oxigênio, meios especiais, chamados de **meios redutores**, devem ser utilizados. Esses meios contêm ingredientes, como o tioglicolato de sódio, que combinam-se quimicamente com o oxigênio dissolvido

e o eliminam no meio de cultura. Para cultivar e manter culturas puras de anaeróbicos obrigatórios, os microbiologistas utilizam meios redutores armazenados em tubos de ensaio firmemente tampados. Esses meios são aquecidos rapidamente antes de ser utilizados, para eliminar o oxigênio absorvido.

Quando placas de Petri são utilizadas para o crescimento e a observação de colônias isoladas, vários métodos estão disponíveis. Laboratórios que trabalham com relativamente poucas placas de cultura de cada vez podem utilizar sistemas para a incubação dos micro-organismos em caixas e jarras seladas das quais o oxigênio é removido quimicamente após as placas de cultura terem sido introduzidas e a jarra selada. Alguns sistemas requerem que água seja adicionada em uma embalagem contendo compostos químicos antes da jarra ser fechada, como mostrado na **Figura 6.6**, e requerem um catalisador. Os compostos químicos produzem hidrogênio e dióxido de carbono (em torno de 4 a 10%) e removem o oxigênio da jarra por sua combinação, na presença de um catalisador, com hidrogênio para formar água. Em outro sistema disponível comercialmente, a embalagem de compostos químicos (o ingrediente ativo é o ácido ascórbico) é simplesmente aberta para sua exposição ao oxigênio na atmosfera da jarra. Não é necessário o uso de água ou catalisador. A atmosfera nas jarras em geral tem menos que 5% de oxigênio, cerca de 18% de  $CO_2$  e nenhum hi-



**Figura 6.6** Uma jarra para cultivar bactérias anaeróbicas em placas de Petri. Quando água é adicionada à embalagem química contendo bicarbonato de sódio e boroidreto de sódio, hidrogênio e dióxido de carbono são gerados. O catalisador de paládio está localizado em uma câmara separada, que também pode ser incorporada na embalagem química, e na sua superfície ocorrerá a reação entre o hidrogênio e o oxigênio do interior da jarra, que combinados formarão água. O oxigênio é assim removido. Na jarra há também um indicador de anaerobiose contendo azul de metileno, que tem a coloração azul quando oxidado, tornando-se incolor quando o oxigênio é removido (como mostrado aqui).

**P** Qual é o nome técnico das bactérias que requerem uma concentração de  $\text{CO}_2$  maior que a atmosférica para seu crescimento?

drogênio. Em um sistema desenvolvido recentemente, cada placa de Petri (OxyPlate) se transforma em uma câmara anaeróbica. O meio na placa contém uma enzima, a oxirase, que combina o oxigênio com o hidrogênio, removendo o oxigênio à medida que água é formada.

Os laboratórios que realizam muitos trabalhos com anaeróbicos com frequência utilizam uma câmara anaeróbica, como a mostrada na **Figura 6.7**. A câmara é preenchida com gases inertes (geralmente cerca de 85%  $\text{N}_2$ , 10%  $\text{H}_2$  e 5%  $\text{CO}_2$ ) e equipada com sistemas de transferência para a introdução e a retirada de culturas e materiais.

### Técnicas especiais de cultura

Muitas bactérias nunca foram cultivadas com sucesso em meios artificiais de laboratório. *Mycobacterium leprae*, o bacilo da lepra, geralmente é crescido em tatus, pois eles têm uma temperatura corporal relativamente baixa que atende às necessidades do micro-organismo. Outro exemplo é a espiroqueta da sífilis, ainda que algumas linhagens não patogênicas desses micro-organismos tenham crescido em meio de laboratório. Com poucas exceções, as bactérias intracelulares obrigatórias, como riquetsias e clamídias, não



**Figura 6.7** Uma câmara anaeróbica. O técnico está pipetando uma suspensão bacteriana em um frasco dentro da câmara anaeróbica preenchida com um gás inerte livre de oxigênio. Seus braços e mãos estão em luvas. Organismos e materiais entram e saem através de um sistema de transferência visível à esquerda.

**P** Em que uma câmara anaeróbica é parecida com o Laboratório Espacial que orbita no vácuo do espaço?

crescem em meios artificiais. Como os vírus, elas somente podem se reproduzir em célula hospedeira viva. Veja a discussão sobre cultura de células, página 378.

Muitos laboratórios clínicos têm *estufas de dióxido de carbono* especiais para o crescimento de bactérias aeróbicas que requerem concentrações de  $\text{CO}_2$  mais altas ou mais baixas que a encontrada na atmosfera. Os níveis desejados de  $\text{CO}_2$  são mantidos por controles eletrônicos. Níveis de  $\text{CO}_2$  elevados também são obtidos com uma simples *jarra com vela*. As culturas são colocadas em uma jarra grande selada contendo uma vela acesa que consome o oxigênio. A vela apaga quando o ar dentro da jarra tem uma concentração baixa de oxigênio (mas ainda suficiente para o crescimento de bactérias aeróbicas). Uma concentração elevada de  $\text{CO}_2$  também está presente. Os micro-organismos que crescem melhor em altas concentrações de  $\text{CO}_2$  são chamados de **capnofílicos**. As condições de oxigênio baixo e  $\text{CO}_2$  alto são similares àquelas encontradas no trato intestinal, no trato respiratório e em outros tecidos corporais onde bactérias patogênicas crescem.

As jarras com velas ainda são utilizadas, mas estão sendo substituídas pelas embalagens comerciais contendo reagentes químicos para a produção de uma atmosfera rica em dióxido de carbono. Quando somente uma ou duas placas de Petri com culturas devem ser incubadas, os pesquisadores de laboratório clínico frequentemente utilizam sacos plásticos com geradores químicos próprios de gás que são ativados por esmagamento do



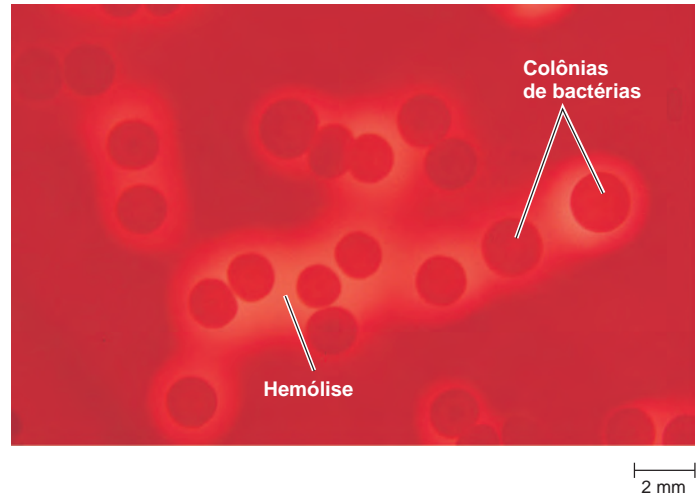
**Figura 6.8** Técnicos em um laboratório de biossegurança de nível 4 (BSL-4). Os profissionais trabalhando em instalações BSL-4 vestem uma “roupa espacial” conectada com um fornecimento de ar externo.

**P** Se um técnico estava trabalhando com prions patogênicos, como o material que sai do laboratório pode ser tratado para deixar de ser infeccioso?

pacote ou adição de alguns mililitros de água. Esses pacotes algumas vezes são desenvolvidos especialmente para fornecer concentrações definidas de dióxido de carbono (em geral maiores que as obtidas em uma jarra de vela) e de oxigênio para o cultivo de organismos como a bactéria microaerofílica *Campylobacter* (página 312).

Alguns micro-organismos são tão perigosos que só podem ser manuseados com sistemas de contenção extremamente complexos chamados de biossegurança de nível 4 (BSL-4, de Biosafety level 4). Os laboratórios de nível 4 são popularmente conhecidos com “zonas quentes”. Somente alguns desses laboratórios existem nos Estados Unidos. O laboratório é um ambiente selado dentro um prédio grande e tem uma atmosfera com pressão negativa, de modo que aerossóis contendo patógenos não podem escapar. As entradas e as saídas de ar são filtradas com filtros de ar (veja os filtros HEPA na página 191); o ar de saída é duplamente filtrado. Todos os materiais residuais que saem do laboratório são desinfetados. A equipe veste “roupas espaciais”, que são conectadas com um fornecimento externo de ar (Figura 6.8).

Organismos menos perigosos são manuseados com níveis de biossegurança menores. Por exemplo, um laboratório de aula de microbiologia básica pode ser BSL-1. Os organismos que apresentam um risco moderado de infecção podem ser manuseados em BSL-2, ou seja, em bancadas abertas de laboratório com luvas apropriadas, avental de laboratório e, se necessário, proteção para o rosto e os olhos. Os laboratórios BSL-3 são destinados aos patógenos do ar altamente infecciosos, como o agente da tuberculose. Gabinetes de segurança biológica com aparência similar a de uma câmara anaeróbica, mostrada na Figura 6.7, são utilizados. O laboratório em si pode ter pressão negativa e ser equipado com filtros de ar para evitar a liberação do patógeno.



**Figura 6.9** Ágar sangue, um meio diferencial contendo hemácias. As bactérias provocaram a lise das hemácias ( $\beta$ -hemólise), produzindo zonas claras ao redor das colônias.

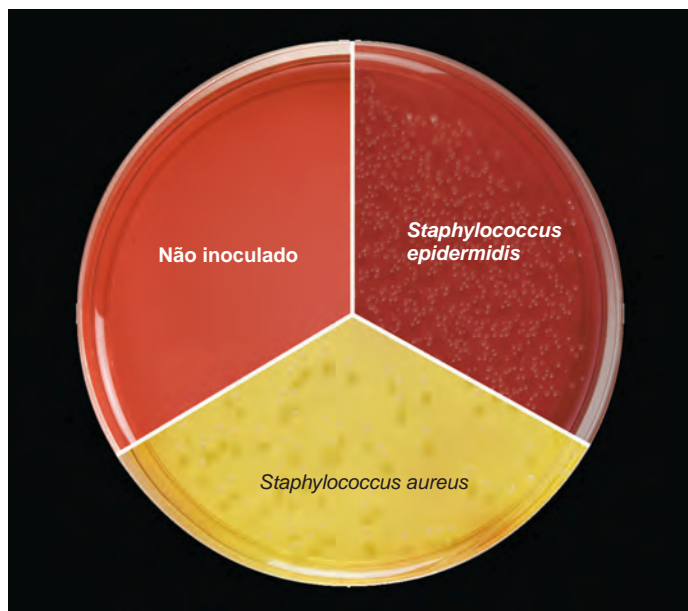
**P** Qual é o valor das hemolisinas para os patógenos?

## Meios de cultivo seletivo e diferencial

Na microbiologia clínica ou de saúde pública, frequentemente é necessário detectar a presença de micro-organismos específicos associados com doenças ou saneamento deficiente. Para essa tarefa, meios seletivos e diferenciais são utilizados. Os meios seletivos são elaborados para impedir o crescimento de bactérias indesejadas e favorecer o crescimento dos micro-organismos de interesse. Por exemplo, o ágar sulfeto de bismuto é um meio utilizado para isolar a bactéria da tifoide, a gram-negativa *Salmonella typhi*, a partir das fezes. O sulfeto de bismuto inibe as bactérias gram-positivas e a maioria das bactérias intestinais gram-negativas (além de *S. typhi*). O ágar Sabouraud dextrose, com pH de 5,6, é utilizado para isolar os fungos que dominam a maioria das bactérias neste pH.

Os meios diferenciais facilitam a diferenciação das colônias de um micro-organismo desejado em relação a outras colônias crescendo na mesma placa. De maneira similar, culturas puras de micro-organismos têm reações identificáveis com meios diferenciais em tubos ou placas. O ágar sangue (que contém hemácias) é um meio utilizado com frequência pelos microbiologistas para identificar espécies bacterianas que destroem hemácias. Essas espécies, como o *Streptococcus pyogenes*, a bactéria que causa infecção de garganta, mostram um anel claro ao redor de suas colônias ( $\beta$ -hemólise, página 319), onde elas têm lisadas as hemácias circundantes (Figura 6.9).

Algumas vezes, as características seletivas e diferenciais são combinadas no mesmo meio. Suponha que queremos isolar a bactéria *Staphylococcus aureus*, encontrada comumente nas fossas nasais. Esse organismo é tolerante a altas concentrações de cloreto de sódio; ele também pode fermentar o carboidrato manitol para formar ácido. O ágar hipertônico manitol contém 7,5% de cloreto de sódio, impedindo o crescimento de organismos competidores e, portanto, selecionando ou favorecendo o crescimento de *S. au-*



**Figura 6.10 Meio diferencial.** As colônias de bactérias no meio diferencial têm uma aparência diferente. Esse meio é o ágar hipertônico manitol, e as bactérias nas colônias capazes de fermentar o manitol do meio em ácidos levam a uma mudança na coloração. Na realidade, esse meio também é seletivo por causa da alta concentração de sal que previne o crescimento da maioria das bactérias, exceto os *Staphylococcus* spp.

**P** As bactérias capazes de crescer em pressão osmótica elevada poderiam crescer no muco encontrado no nariz?

*reus*. Esse meio salino também contém um indicador de pH que muda de cor se o manitol do meio é fermentado a ácido; as colônias fermentadoras de manitol de *S. aureus* são assim diferenciadas das colônias de bactérias que não fermentam o manitol. As bactérias que crescem em concentração elevada de sal e fermentam o manitol podem ser facilmente identificadas pela mudança de coloração (Figura 6.10). Provavelmente elas sejam colônias de *S. aureus*, e sua identificação pode ser confirmada por testes adicionais. A utilização de meio diferencial para identificar *E. coli* produtora de toxina é discutida no Capítulo 5, página 139.

## Meios de enriquecimento

Como as bactérias em pequeno número podem ser perdidas, em particular se outras bactérias estiverem presentes em maior número, algumas vezes é necessário utilizar uma **cultura de enriquecimento**. Com frequência essa metodologia é empregada com amostras de solo ou fezes. O meio (meio enriquecido) para enriquecer uma cultura geralmente é líquido e fornece nutrientes e condições ambientais que favorecem o crescimento de um micro-organismo específico e não de outros. Nesse sentido, também é um meio seletivo, mas elaborado para amplificar até níveis detectáveis um número muito pequeno do micro-organismo de interesse.

Suponha que queremos isolar de uma amostra de solo um micro-organismo que pode crescer com fenol e que está presente em número menor que outras espécies. Se a amostra de solo é colocada em um meio líquido de enriquecimento no qual o fenol é a única

Tabela 6.5 Meios de cultura	
Tipo	Finalidade
<b>Quimicamente definido</b>	Crescimento de quimioautotróficos e fotoautotróficos; ensaios microbiológicos.
<b>Complexo</b>	Crescimento da maioria dos organismos quimioheterotróficos.
<b>Redutor</b>	Crescimento de anaeróbicos obrigatórios.
<b>Seletivo</b>	Supressão de micro-organismos indesejados; favorecimento dos micro-organismos de interesse.
<b>Diferencial</b>	Diferenciação das colônias dos micro-organismos de interesse em relação aos outros.
<b>Enriquecimento</b>	Similar ao meio seletivo, mas elaborado para aumentar o número de micro-organismos de interesse até níveis detectáveis.

fonte de carbono e energia, os micro-organismos incapazes de metabolizar o fenol não irão crescer. O meio de cultura é incubado durante alguns dias, e então uma pequena quantidade é transferida para outro frasco do mesmo meio. Após uma série de transferências, a população sobrevivente consistirá das bactérias capazes de metabolizar o fenol. As bactérias têm um determinado tempo para crescer no meio entre as transferências; esse é o estágio de enriquecimento (veja o quadro no Capítulo 28, página 801). Qualquer nutriente trazido pelo inóculo original é rapidamente eliminado por diluição com as transferências sucessivas. Quando a última diluição é semeada em um meio sólido com a mesma composição, somente as colônias do organismo capaz de utilizar o fenol poderão crescer. Um aspecto admirável dessa técnica é que o fenol normalmente é letal para a maioria das bactérias.

## TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Os seres humanos poderiam se desenvolver em um meio quimicamente definido, pelo menos em condições de laboratório? **6-8**
- ✓ Louis Pasteur, nos anos de 1800, poderia ter crescido o vírus da raiva em cultura de células em vez de animais vivos? **6-9**
- ✓ Que nível de BSL o seu laboratório tem? **6-10**

\* \* \*

A Tabela 6.5 resume os propósitos dos principais tipos de meios de cultura.

## Obtenção de culturas puras

### OBJETIVOS DO APRENDIZADO

- 6-11** Definir colônia.
- 6-12** Descrever como culturas puras podem ser isoladas pelo método de semeadura por esgotamento.

A maioria dos materiais infecciosos, como pus, escarro e urina, contém diversos tipos de bactérias; da mesma forma que amostras