**BMM0400 – P2. GABARITO QUESTOES DISSERTATIVAS da profa. Elisabete**

Abaixo seguem algumas respostas consideradas CORRETAS DESTACADAS de Alunos e/ou alguns trechos de destas respostas.

As Respostas estão bem completas, mas formas abreviadas de respostas foram consideradas como **CORRETA**S.

**Deixo meus cumprimentos a todos pois, em plena maioria, foram MUITO, MUITO BEM! *Parabéns*! *Estou orgulhosa de vocês!***

***Espero que os ensinamentos de microbiologia façam diferença na vida de todos e que tenham uma ótima carreira profissional*** 

**Q1.** *Escherichia coli* é uma enterobactéria que faz parte da microbiota normal do intestino humano. Discuta se esta afirmação está correta ou não, e explique por que bactérias *E. coli* podem ser isoladas de casos de diarreia e de disenteria bacilar (5-6 linhas).

A afirmação está correta, a Escherichia coli é uma enterobactéria que habita no intestino humano como microbiota normal. Porém, ao adquirir fatores de virulência como plasmídeos, fímbrias e toxinas, torna-se uma enterobactéria patogênica, causando infecção. Alguns isolados de E. coli são responsáveis por casos de diarreia e disenteria, como a EPEC, ETEC, EHEC e EIEC.

A EPEC causa destruição das células intestinais, impedindo a absorção de água e provocando a diarreia; a ETEC produz e libera as toxinas LT e ST com infecção superficial, causando diarreia (febre dos viajantes); a EHEC produz a verotoxina (VT), causando disenteria; a EIEC causa inflamação e necrose da mucosa do íleo terminal e do cólon, resultando em disenteria.

Sim, a afirmação está correta, a Escherichia coli é uma enterobactéria que faz parte da microbiota normal do intestino humano, pois nem todas as E. coli são enteropatogênicas. Pela sorotipagem, temos os tipos antigênicos e se tem 181 grupos sorológicos diferentes e quando a E. coli enteropatogênicas causam diarreia e disenteria bacilar alguns sorotipos são identificados e caracterizados como causadores da doença. Dentre as enteropatogênicas, algumas linhagens possuem fatores de virulência específicos: adesinas e exotoxinas, por exemplo: a ETEC produz e libera toxinas codificadas por plasmídeo e possui adesina que irão promover uma adesão ao epitélio intestinal que causam diarreias. A EPEC e ETEC causam a diarreia e a EHEC e a EIEC causam disenteria bacilar.

A *E. coli*é uma bactéria que apresenta vários sorotipos diferentes, entre eles temos enterobactérias que compõem a microbiota normal do intestino humano, como citado pela afirmação acima, mas também existem alguns sorotipos que são enteropatogênicos que podem gerar casos de diarreia como a EPEC e a ETEC (enterotoxigênica), por meio da adesão com as células, de lesões (EPEC) e da ação de enterotoxinas  e fímbrias de colonização (ETEC),  e as que provocam disenteria bacilar como a EHEC (enterohemorrágica) e EIEC (enteroinvasora), por meio da invasão celular (EIEC), da ação de citotoxinas potentes e de hemorragia (EHEC).

A maioria das enterobactérias habita o intestino do ser humano como microbiota normal. Algumas espécies são enteropatogênicas e podem ser classificadas de acordo com suas diferenças bioquímicas e sorológicas, fatores de virulência, sensibilidade aos bacteriófagos. Desse modo, é possível destacar a E. coli Enteropatogênica (EPEC) e E. coli Enterotoxigênica (ETEC), enterobactérias que podem causar diarréia, assim como E. coli Enterohemorrágica (EHEC) e E. coli Enteroinvasora (EIEC), que podem causar disenteria bacilar.

As bactérias E. coli podem ser encontradas numa grande diversidade de locais: água, plantas, solos, alimentos contaminados, mas é encontrada principalmente no intestino (seu habitat natural). Dessa forma, a afirmativa está correta, pois as E. coli fazem parte da microbiota normal do intestino, mas existem E. coli que são patogênicas ao homem (EPEC, ETEC, EHEC, EIEC, ExPEC). As patogênicas podem causar infecção intestinal (diarreia ou disenteria bacilar), ou até provocar infecções extra intestinais (caso da ExPEC), como: infecção urinária, meningite e bacteremia. As que causam diarreia são EPEC e ETEC, pois provocam lesões ou produzem enterotoxinas que levam a liberação de água na luz do intestino, levando à diarreia; e as que causam disenteria bacilar são EHEC e EIEC, pois provocam uma diarreia acompanhada de muco e/ou sangue (e possui bacilos que são possíveis de serem isolados).

A afirmação descrita na pergunta está correta, uma vez que a bactéria *Escherichia coli*é um bacilo Gram negativo que pode ser encontrado no trato intestinal dos indivíduos como um agente pertencente a microbiota do corpo humano. Entretanto a bactéria em questão pode conter ilhas de patogenicidade, que podem surgir por meio da aquisição de um plasmídeo, por meio de bacteriófagos que visitam a célula bacteriana ou por meio de mutações e deleções. Estes fatores oriundos da formação das ilhas de patogenicidade podem contribuir para que a bactéria atue como um agente patogênico que propicia casos de diarreia e de disenteria bacilar nos acometidos. As bactérias do gênero *Escherichia*enteropatogênicas, ou seja, aquelas que desencadeiam doenças no acometidos, podem ser classificadas como EPEC, ETEC, EHEC e EIEC.

**Q2**. Várias enterobactérias podem causar diarréia e de disenteria bacilar. Discuta se esta afirmação está correta ou não, e descreva as etapas de testes laboratoriais que devem ser realizados para a identificação da bactéria causadora destas duas doenças.

A afirmação "Várias enterobactérias podem causar diarréia e disenteria bacilar." está correta, uma vez que é possível isolar diversas bactérias da família das enterobactérias que são patogênicas e causam diarreia ou disenterias bacilar, como é o caso de alguns sorogrupos da Escherichia coli (ETEC, EPEC, EIEC, EHEC e ExPEC), ou de algumas espécies dos gêneros Shigella e Salmonella.

Para identificar a bactéria causadora destas doenças, é preciso **fazer a coloração de Gram e observar ao M.O., em seguida, semear em meio seletivo MacConkey** (que só permite crescimento de bactérias Gram-negativas) e analisar a cor das colônias: serão róseas se a bactéria em questão for lac+ (como é o caso da Escherichia coli e da Klebsiella) ou serão brancas se a bactéria for lac- (como é o caso da Shigella e da Salmonella).

Há também várias provas bioquímicas, como a do Citrato de Simmons, que permite separar as bactérias que são capazes de oxidar citrato produzindo CO2 (meio azul), como a Klebsiella, das que não são capazes de utilizar o Citrato como única fonte de carbono (meio verde), como a Escherichia coli.

Além dessa, há os testes no meio Mili, que permitem checar motilidade: Klebsiella e Shigella dão negativo (só há crescimento de colônias no local semeado) enquanto a Salmonella se difunde à partir do inócuo inicial, demonstrando possuir motilidade. O meio Mili, também permite checar se a bactéria produz a enzima Lisina descarboxilase (cor púrpura), como é o  caso da Escherichia coli, Klebsiella e da Salmonella, ou se a bactéria não produz essa enzima (cor amarela na parte inferior do tubo), como é o caso da Shigella. Ainda com o meio Mili, é possível avaliar a produção de Indol.

Há também as provas bioquímicas no meio EPM, que checam a fermentação de glicose, a produção de gás, a produção de H2S, a produção de urease e a produção de LTD.

COM ISTO, SE IDENTIFICA A ESPECIE DA BACTERIA. SE FOR E. coli, para se identificar o sorotipo deve ser realizada as **análises sorológicas**.

Esta informação está correta. As cepas de*E. coli* podem ser classificadas em EPEC e ETEC (que causam diarreia), EHEC e EIEC (que causam disenteria bacilar), além da *Salmonella* e *Shigella* também causarem disenteria bacilar. O diagnóstico deve ser feito por meio de: cultivo das bactérias das fezes (coprocultura) em meio MacConkey ou SS, isolamento das bactérias, identificação através de provas bioquímicas e sorológicas, ELISA, PCR e sondas, pesquisa de enterotoxinas: LT-I e STa (ETEC), teste de Séreny reservado para amostras duvidosas (EIEC), entre outros.

É uma afirmação verdadeira. Como exemplo, EPEC e ETEC causam apenas diarreia, enquanto EIEC, EHEC, Salmonella e Shigella podem causar disenteria bacilar. O primeiro passo é a bacterioscopia (coloração de Gram), seguido de provas bioquímicas e provas sorológicas.

A afirmação está correta, diversas enterobactérias são patogênicas e causam diarreias e disenterias. A identificação dessas bactérias deve ser feita primeiramente com a coloração de Gram, que deve indicar bactérias gram-negativas e depois através de coprocultura em Ágar MacConkey, analisando a fermentação de lactose. Colônias lactose positivas ficam com coloração vermelha e colônias lactose negativas ficam com coloração branca.

Além do MacConkey, as análises podem variar de acordo com o caso, mas incluem-se provas bioquímicas, testes imunológicos, sorologia, PCR, sondas e teste de Séreny.

MUITO BOM:

A afirmação está correta, haja vista que, por exemplo, as enterobactérias EIEC (E. coli enteroinvasora), EHEC (E. coli entero-hemorrágica), Salmonella e Shigella são produzem disenteria bacilar; enquanto EPEC (E. coli enteropatogênica) e ETEC (E. coli enterotoxigênica) causam diarréia. As etapas de testes laboratoriais estão listadas abaixo:

* Bacterioscopia - visualização de um esfregaço em lâmina de microscopia com Coloração de Gram, ao Microscópio Óptico (M.O.), da qual obtém-se Bacilos Gram-negativos (BGN)
* Provas bioquímicas - adequadas para diferenciar e identificar cada enterobactéria, então no meio Ágar MacConkey, verifica-se se a bactéria é capaz de fermentar ou não lactose; no meio Ágar Citrato de Simmons, observa-se a capacidade de oxidar e crescer tendo o citrato de sódio como única fonte de carbono; nos testes de MILi (Motilidade, Indol e Lisina-descarboxilase), avalia-se a mobilidade, a descarboxilação da lisina e a produção de indol; e no Meio EPM, testa-se a fermentação de glicose, a produção de gás pela mesma fermentação, a produção de H2S, a hidrólise da uréia e a desaminação do triptofano.
* Sorotipagem - é baseada em antígenos, que são os Ag O, H e K, os quais correspondem a, respectivamente, a porção PS do lipolissacarídeo, o flagelo e a cápsula.
* Outros testes possíveis: PCR, sondas e testes imunológicos.

Com isso, obtém-se que todas as Enterobactérias são fermentadoras de glicose, sendo que, para os exemplos mencionados, a Shigella é negativa para as demais provas bioquímicas; Salmonella é +/- citrato, Lac-, móvel; e E. coli é Lac+, citrato negativa e +/- móvel (tendo suas espécies diferenciadas com sorotipagem).

**Q4.** Diferencie meios de cultura de uso geral, meios seletivos e meios diferenciais. Dê um exemplo de um meio utilizado para uma dessas finalidades (3-5 linhas).

* **Meios Completos (ou Meio Complexo):** contém proteína hidrolisada com ou sem açúcar. Exemplo: caldo nutriente, ágar-nutriente, LB/LA e TSB/TSA.
* **Meios Seletivos:** meio de cultura complexo acrescido de substâncias e inibidoras de crescimento, permitem o crescimento de apenas algumas bactérias. Exemplo: Ágar Manitol salgado, que contém alta concentração de NaCl (7,5%) que impede o crescimento de muitas bactérias e permite o cultivo e seleção da bactéria Staphylococcus aureus.
* **Meios Diferenciais:**meio de cultura complexo acrescido de substâncias e indicadores que permitem a diferenciação visual de colônias bacterianas. Exemplo: Ágar MacConkey, que contém somente o açúcar lactose e o indicador vermelho neutro: Lac+ (vermelha) e Lac- (branca).

Meios de cultura geral são: A) Líquido: Um caldo de nutrientes, utilizado para acompanhar a curva de crescimento; B) Sólido: Possui a mesma composição do meio líquido, acrescido de 2% ágar-ágar, empregado para isolamento de bactérias; C) Mineral: Contém apenas sais minerais e uma fonte de carbono, pode-se citar o meio M9 como exemplo; D) Completo: Possui proteína hidrolisada com ou sem açúcar. Os meios diferenciais possuem substâncias que garantem a diferenciação visual da colônia de bactérias, pode-se citar como exemplo o meio Ágar sangue. Os meios seletivos apresentam substâncias inibidoras de crescimentos, permitindo a proliferação de apenas algumas bactérias, como exemplo pode-se citar o meio Ágar Manitol salgado. Os meios diferenciais e seletivos agrupam as qualidades seletiva e diferencial e, como exemplo, há o meio Ágar Cetrimide.

Meios de cultura de uso Geral são:

* os meios completos (proteína hidrolisada com ou sem açúcar, como o Agar nutriente)
* meio mineral (contém somente sais minerais e fonte de carbono com o açúcar glicose).

Já os meios complexos temos:

* os meios diferenciais (que possibilitam a diferenciação visual dos meios de cultura, como o Agar MacConkey e o Agar Sangue),
* meios seletivos (com substâncias inibidoras de crescimento, como no caso do Agar manitol Salgado)
* e os meios diferenciais e seletivos (que reúnem caraterísticas para serem seletivos e diferenciais, como Martin Chocolate e o ágar Cetrimide)

