



Instituto de Ciências
Biomédicas USP



Profa. Elisabete Vicente
Dep. Microbiologia ICB/USP
bevicent@usp.br

Fisiologia e Crescimento bacteriano

Resumo:

1. Crescimento Microbiano
 - 1.1. Por que é importante estudar o crescimento bacteriano
 - 1.2. Como as bactérias se multiplicam
 - 1.3. Calculando o número de bactérias em uma cultura
2. Curva de Crescimento bacteriano
 - 2.1. Fases de uma Curva de Crescimento
 - 2.2. Acompanhamento de uma Curva de Crescimento bacteriano
3. Nutrientes necessários para o cultivo
 - 3.1. Macronutrientes
 - 3.2. Micronutrientes
 - 3.3. Fatores de Crescimento
4. Condições de Cultivo
 - 4.1. pH
 - 4.2. Temperatura
 - 4.3. Concentração de Oxigênio
5. Metabolismo – Alguns comentários
6. Meios de Cultura
 - 6.1. Tipos de meios: Meio Líquido e Meio Sólido,
 - 6.2. Meio mineral, Meios Completos, Meios Diferenciais, Meios Seletivos, Meios Diferenciais e Seletivos
7. Controle do Crescimento bacteriano
8. Questões de Fixação e Desafio



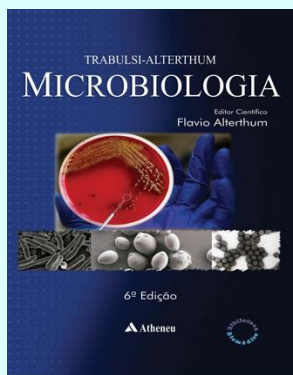


Espaço Microbiologia ICB/USP

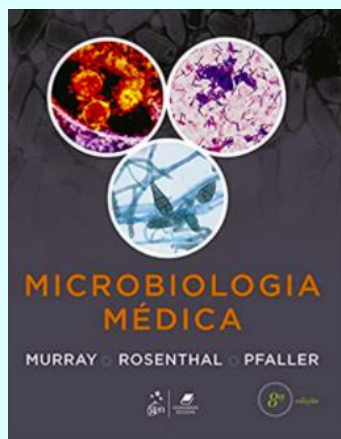
bem vindos, bem vindos !!!!

Instituto de Ciências
Biomédicas USP

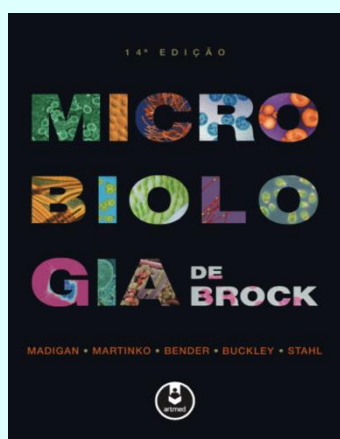
Há vários ótimos livros de Microbiologia, abaixo seguem alguns recomendados:



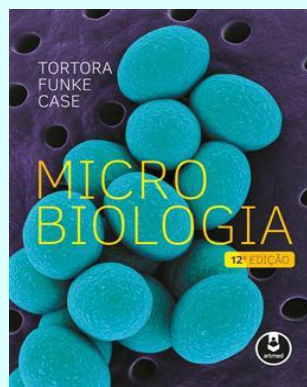
Microbiologia.
Trabulsi & Alterthum
2015, 6ª Ed.,
Livraria Atheneu



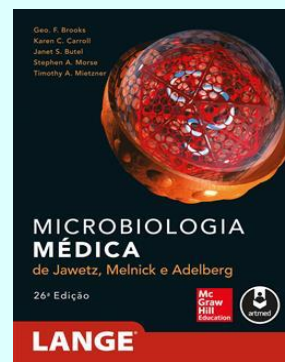
Microbiologia Médica
Murray, P.R.; Rosenthal, K.
S.; Pfaller, M. A.
2017 8ª edição,
Editoras: Gen/Guanabara
Koogan.



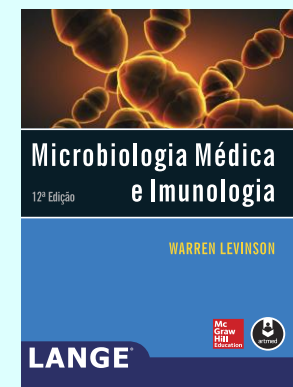
Microbiologia de **Brock**
Eds. M. T. Madigan, J. M.
Martinko, J. Parker.
2016, 14ª. Ed.
Editora ArtMed



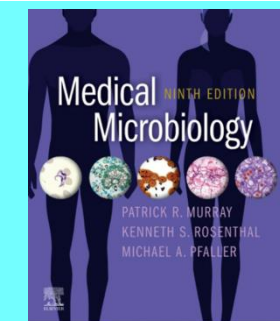
Microbiologia.
Tortora, Funke, Case.
12ª. Ed., 2017.
Grupo A



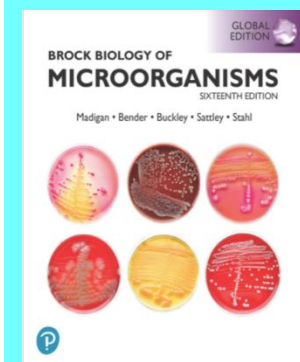
Microbiologia Médica.
Jawetz, Melnick,
Adelberg.
26ª. Ed., 2014. Grupo A



Microbiologia Médica e
Imunologia. **Levinson**.
12ª Ed., 2014
Livraria Atheneu



Medical Microbiology
2020, (English Edition)
9ª. Ed. Ed Elsevier

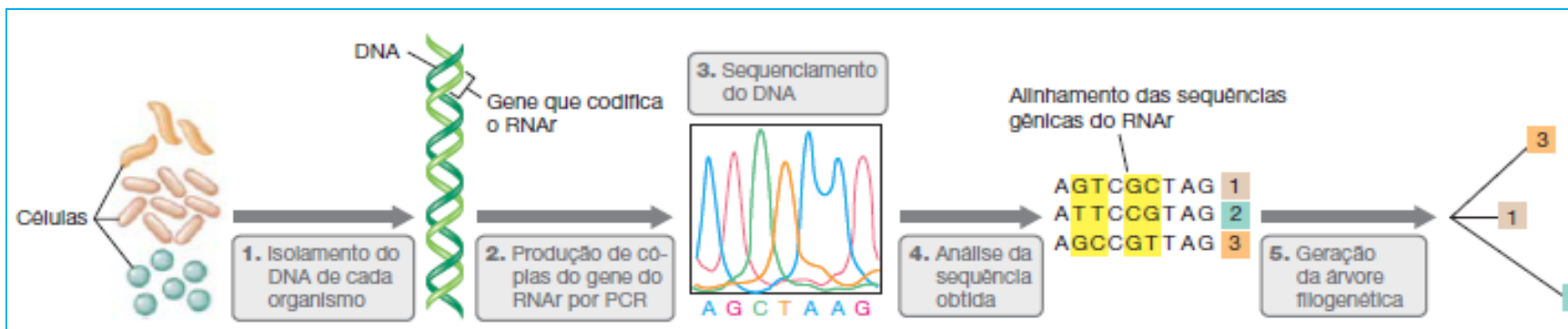
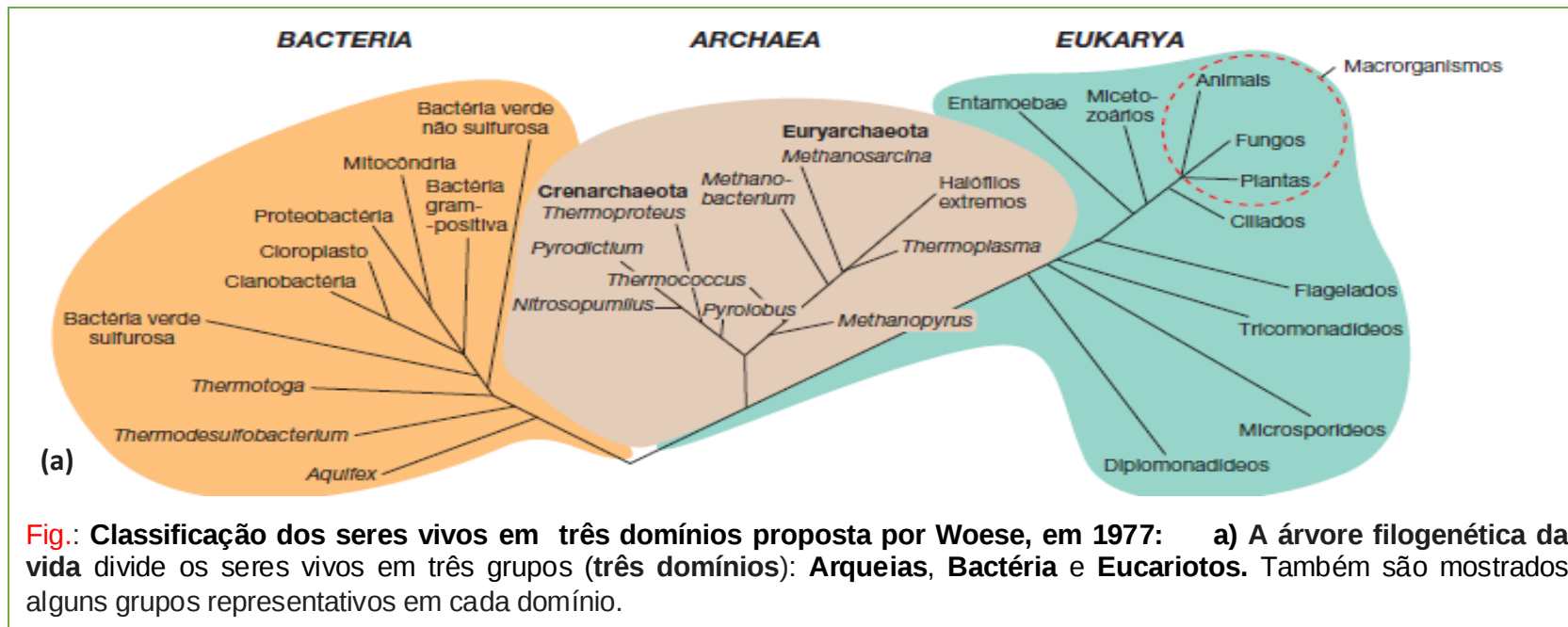


**Brock Biology of
Microorganisms**,
Global Edition (English
Edition), **2021**, 16ª. Ed.
Editora Pearson

Para os
desejosos de
literatura ainda mais
recente:

Morfologia e Estrutura das bactérias

1. Introdução: Os três domínios da vida



(b) A tecnologia que foi empregada - análise da sequência do RNA ribossomal (rRNA):

- 1) O DNA é extraído das células;
- 2) Cópias do gene que codifica o rRNA são produzidas por PCR;
- 3,4) O gene é sequenciado e a sequência obtida é alinhada com sequências de outros organismos. Um algoritmo de computador realiza comparações de pares em cada base e gera uma árvore filogenética;
- 5) Análise das relações evolutivas.

No exemplo, as diferenças na sequência são destacadas em amarelo, sendo as seguintes:

- organismo 1 versus organismo 2, três diferenças;
- organismo 1 versus organismo 3, duas diferenças;
- organismo 2 versus organismo 3, quatro diferenças.

Assim, isto revela que os organismos 1 e 3 possuem parentesco mais próximo do que 2 e 3.



Instituto de Ciências
Biomédicas USP

Fisiologia e Crescimento bacteriano

Objetivos:

- 1- Conhecer os princípios e fases do crescimento bacteriano e sua importância prática
- 2- O que é curva de crescimento bacteriano e como seu conhecimento pode auxiliar no entendimento de um processo infeccioso?
- 3- Reconhecer a importância de elementos específicos no crescimento bacteriano como pH, disponibilidade de oxigênio, temperatura e nutrientes
- 4- Conhecer a classificação bacteriana em relação ao metabolismo de O₂
- 5- Conhecer as características e diferenças entre um meio diferencial, seletivo e completo
- 6- O que é diversidade metabólica das bactérias e porque isso pode ser importante clinicamente
- 7- Entender a importância do conhecimento sobre o cultivo bacteriano e sua relação com as ferramentas diagnósticas de processos infecciosos
- 8- Entender o mecanismo de ação das principais classes de antimicrobianos



Profa. Elisabete Vicente
Dep. Microbiologia ICB/USP
bevicent@usp.br

1. Crescimento bacteriano

1.2. Por que é importante estudar o crescimento das bacteriano ?

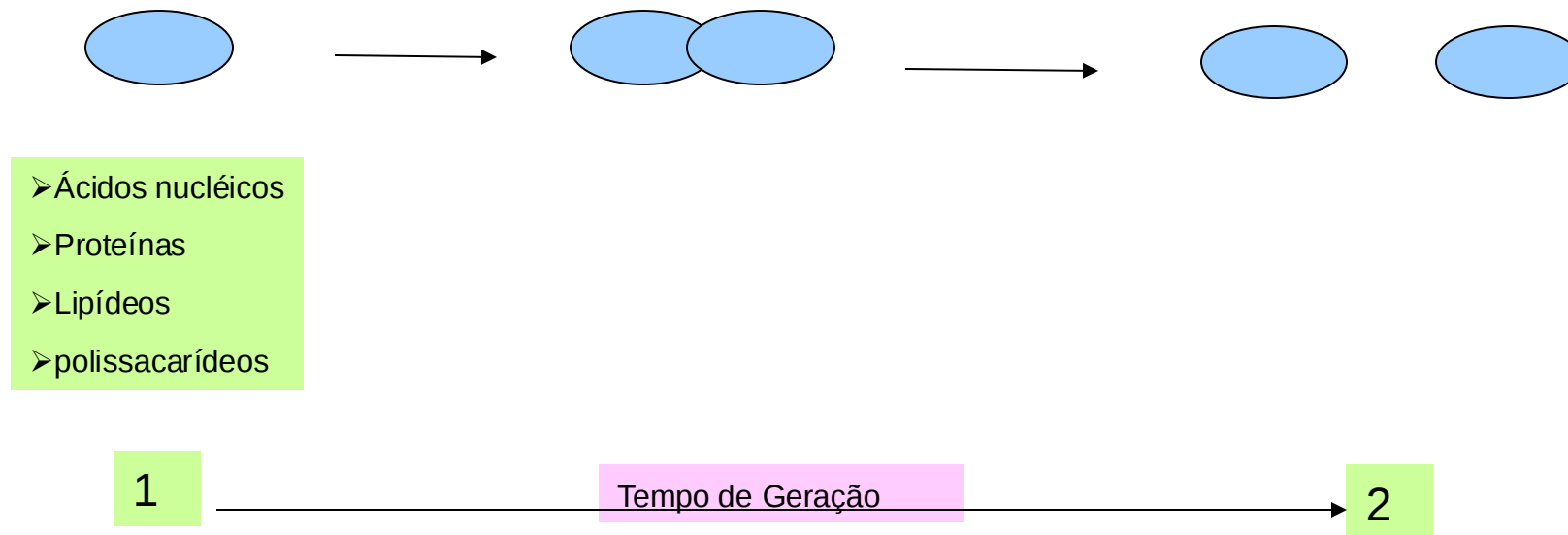


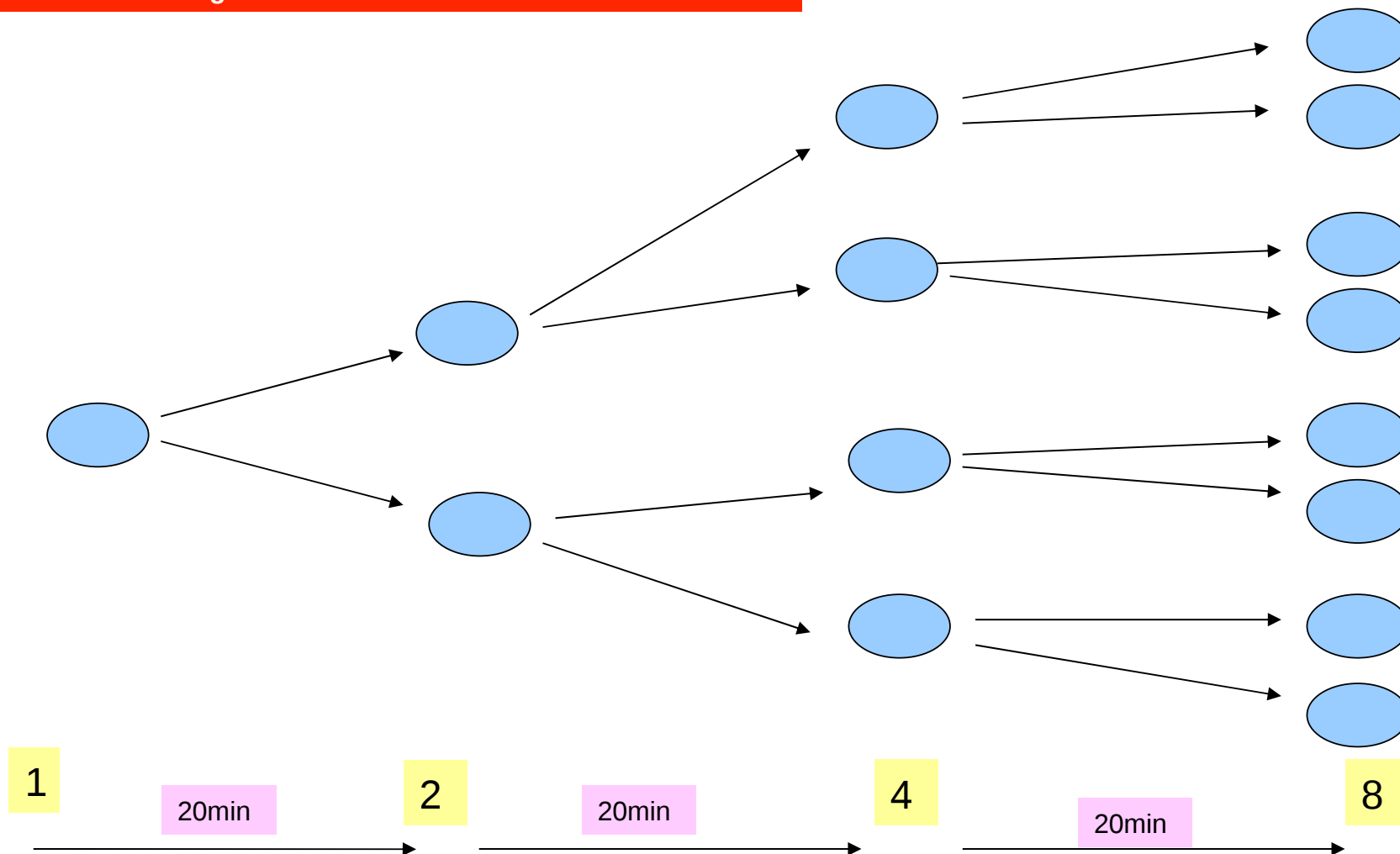
- Isolar os agentes causais das doenças infecciosas
- Identificação dos agentes causais das doenças infecciosas
- Desenvolvimento de agentes antimicrobianos
- Preservação dos alimentos
- Estudo: Bioquímica, Genética, Biotecnologia

Estas respostas também se aplicam para o crescimento microbiano em geral

1.2. Como as bactérias se multiplicam?

As bactérias se proliferam por divisão binária em duas metades equivalentes





$$X = x_0 \cdot 2^n$$

Onde n= número de
gerações

$$X = 1 \cdot 2^3$$

$$X = 8$$

1.3. Calculando o número de bactérias em uma cultura



Vamos fazer um Exercício.....

- Considerando que o tempo de geração da bactéria *Escherichia coli* é de 20 minutos, partindo-se de uma única célula quantas células bacterianas serão obtidas após 1 hora de cultivo?

1 hora

R: Em 1 hora de cultivo (60 minutos) teremos 3 gerações (n=3)

$$\text{Então: } X = x_0 \cdot 2^n$$

$$X = 1 \cdot 2^3$$

$$X = 8$$

- E após 2 horas de cultivo?

2 horas

R: Em 2 horas de cultivo (120 minutos) teremos 6 gerações (n=6)

$$\text{Então: } X = x_0 \cdot 2^n$$

$$X = 1 \cdot 2^6$$

$$X = 64$$

- Sabendo-se de o tempo de geração de *E. coli* é de 20 minutos, partindo-se de uma única célula quantas células bacterianas serão obtidas após 1 hora de cultivo?

1 hora

R: Em 1 hora de cultivo (60 minutos) teremos 3 gerações (n=3)

$$\text{Então: } X = x_0 \cdot 2^n$$

$$X = 1 \cdot 2^3$$

$$X = 8$$

OK, entendi. Mas, e após X horas de cultivo ?

3 horas

R. Teremos 3 gerações a cada hora, 9 gerações (n=9)

$$\text{Então: } X = x_0 \cdot 2^n$$

$$X = 1 \cdot 2^9$$

$$X = 8 \cdot 8 \cdot 8 = 512$$

4 horas

R. 12 gerações (n=12)

$$\text{Então: } X = x_0 \cdot 2^{12}$$

$$X = 2^9 \cdot 2^3 = 512 \cdot 8 = 4.086$$

12 horas

R. Número de gerações= 12 . 3 (n=36)

$$\text{Então: } X = x_0 \cdot 2^{36}$$

$$X = 2^9 \cdot 2^9 \cdot 2^9 \cdot 2^9 = 512 \cdot 512 \cdot 512 \cdot 512 = \mathbf{6,86 \cdot 10^{10}}$$

24 horas

R. Número de gerações= 24 . 3 (n=72)

$$\text{Então: } X = x_0 \cdot 2^{72}$$

$$X = 2^{36} \cdot 2^{36} = \mathbf{4,7 \cdot 10^{21}}$$



24 horas

R. Número de gerações= 24 .3 (n=72)

Então: $X = x_0 \cdot 2^{72}$

$$X = 2^{36} \cdot 2^{36} = \mathbf{4,7 \cdot 10^{21}}$$

48 horas

R. Número de gerações= 48.3 (n=144)

Então: $X = x_0 \cdot 2^{144}$

$$X = 2^{72} \cdot 2^{72} = \mathbf{2,21 \cdot 10^{43}}$$

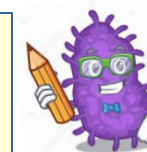
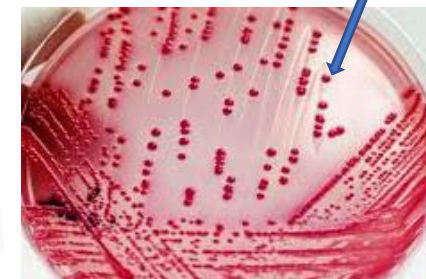


Então, após 24 horas de cultivo uma única colônia bacteriana chegará a $\mathbf{4,7 \cdot 10^{21}}$ células, e após 48 horas de cultivo chegará a $\mathbf{2,21 \cdot 10^{43}}$ células ? Como assim ?

Pois é, se o crescimento bacteriano apenas seguisse esta escalada de crescimento exponencial, em poucos dias a massa de uma única colônia bactéria seria maior que a massa do Planeta Terra. Aonde esta massa bacteriana encontraria nutrientes para isto?

Na verdade, o número máximo de células em uma colônia bacteriana é **variado**, mas chega ao **máximo a $1 \cdot 10^8$** . Depois disto, a própria difusão de nutrientes para o interior da colônia impede o prosseguimento do seu crescimento. Então, por escassez de nutrientes.

1 colônia bacteriana tem no máximo $\mathbf{1 \cdot 10^8}$ células



Ah... daí você vai querer saber: E se o cultivo for realizado em meio líquido? Nesta condição os nutrientes podem chegar com maior facilidade a cada uma das células. O crescimento bacteriano continua até que ponto ?



Culturas bacterianas têm no máximo $\mathbf{1 \cdot 10^8}$ células/ml

Veja, a máxima concentração de células bacterianas em uma cultura também é **variada**, mas em média chega ao máximo de $\mathbf{1 \cdot 10^8}$ células/ml.

E por que isto ocorre? **Isto ocorre por duas razões:**

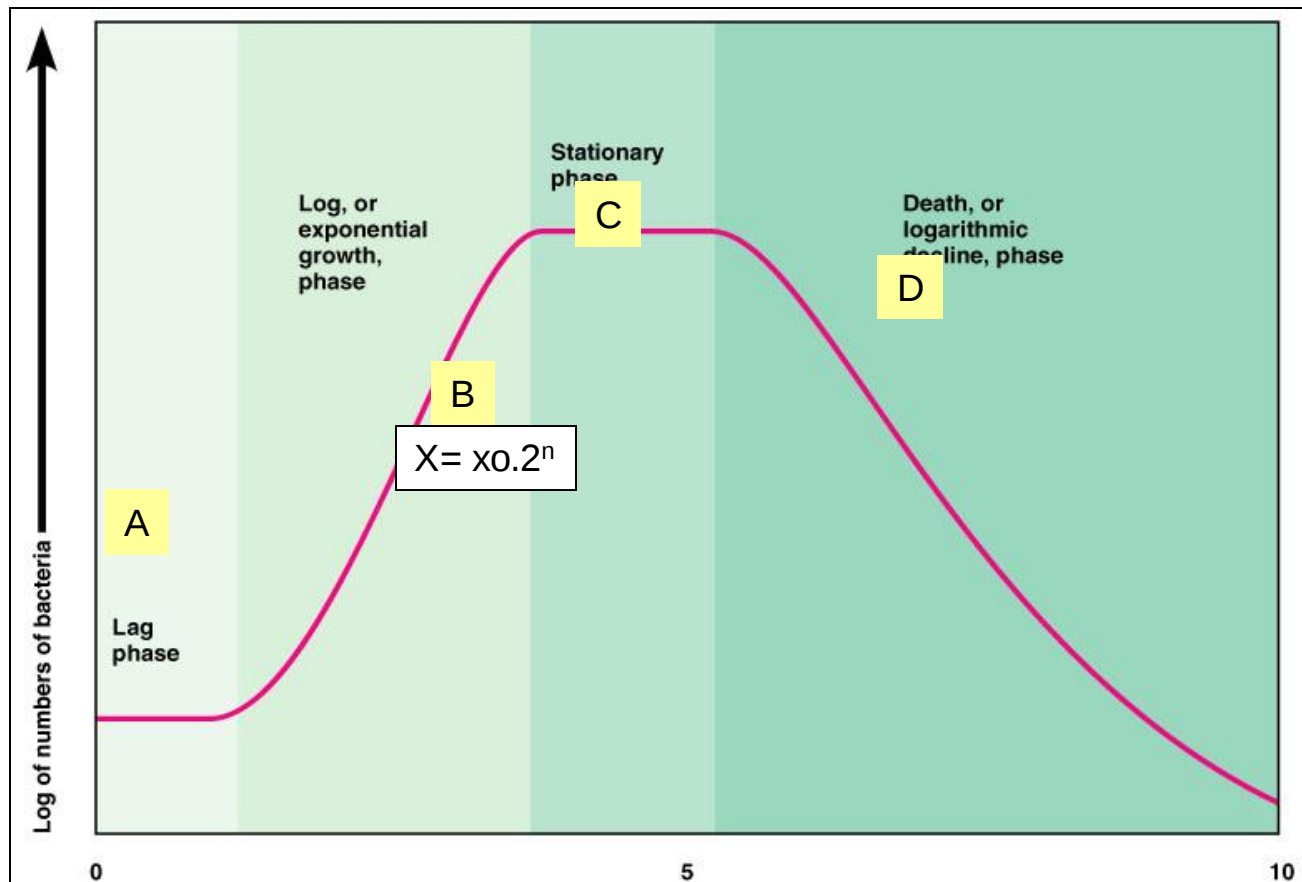
-**Escassez de** nutrientes;

-Porque as bactérias produzem, como subproduto do seu crescimento, uma substância chamada "**quorum sensing**". Quando esta substancia chega a uma determinada concentração, a divisão celular bacteriana e interrompida.



2. Curva de Crescimento bacteriano

2.1. Fases de uma Curva de Crescimento



Fases da Curva de Crescimento de bactérias:

A - Fase Lag ou Fase de adaptação

B - Fase Exponencial ou Logarítmica (Log)

C - Fase Estacionária

D - Fase de Declínio

Fases de crescimento bacteriano:

A - Fase lag de crescimento ou de Adaptação:

Nesta Fase de crescimento, as bactérias estão aumentando o conteúdo intracelular de macromoléculas e se adaptando às condições do meio de cultura e o cultivo em geral;

B - Fase Log de crescimento ou Logarítmica de crescimento:

É nesta Fase de crescimento que as bactérias estão se dividindo EXPONENCIALMENTE como demonstramos no exercício anterior.

C - Fase Estacionária de crescimento:

Nesta Fase do crescimento, podem ocorrer 2 situações: 1) as bactérias permanecem viáveis mas não estão se dividindo; 2) o número de células bacterianas que se dividem é igual ao número de células bacterianas que estão perdendo viabilidade.

D - Fase de declínio de crescimento:

Nesta Fase de crescimento, conforme o tempo vai passando, as células da população bacteriana vão perdendo sua viabilidade. Então, após um determinado tempo o número de células viáveis na população será muito baixo e seguirá caindo até que todas estejam mortas.

2.2. Acompanhamento de uma Curva de Crescimento bacteriano



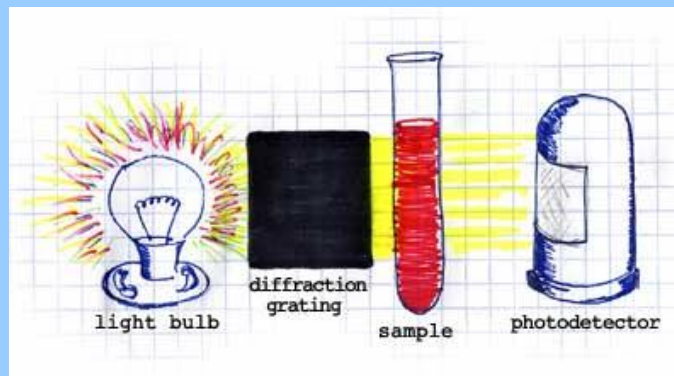
Quero traçar uma Curva de Crescimento Bacteriano. Como o crescimento da cultura bacteriana pode ser acompanhado?

1. Contando (usando o microscópio) o número de células ao longo do cultivo.
Mas isto não é muito prático, pois não é tão fácil para executar.



- Quero traçar uma Curva de Crescimento Bacteriano. Como o crescimento da cultura bacteriana pode ser acompanhado?

2. Acompanhando o aumento da turvação ao longo do cultivo



	A	B	C	D	E
1					
2					
3	BACTERIAL GROWTH CURVE DATA TABLE				
4					
5					
6		Minutes	Absorbancy at 660 nm		
7		Incubation	CSHA	TSB	
8		0	0.021	0.014	
9		30	0.022	0.015	
10		60	0.025	0.019	
11		90	0.034	0.033	
12		120	0.051	0.065	
13		150	0.078	0.124	
14		180	0.118	0.238	
15		210	0.179	0.460	
16		240	0.273	0.698	
17		270	0.420	0.910	
18		300	0.598	1.070	

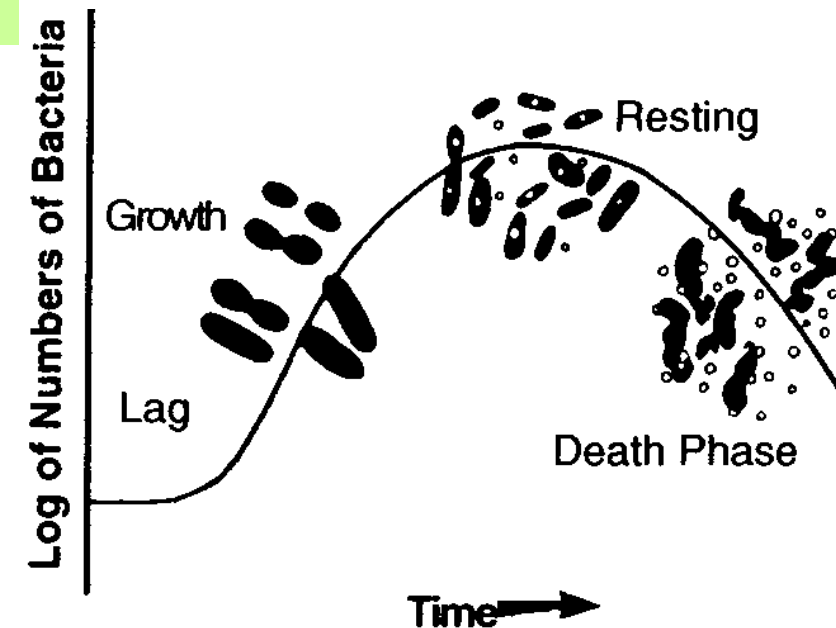
- Quero traçar uma Curva de Crescimento Bacteriano. Como o crescimento da cultura bacteriana pode ser acompanhado?

1. Contando-se o número de células ao longo do cultivo

2. Acompanhando-se o aumento da turvação ao longo do cultivo

3. Há outras possibilidades como:

- Acompanhando a demanda por O_2 da cultura,
- Acompanhando a produção de algum metabolito bacteriano



3. Nutrientes necessários para o cultivo

- 3.1. Macronutrientes
- 3.2. Micronutrientes
- 3.3. Fatores de Crescimento

Macronutrientes	Fontes de Energia	- Orgânicos - Inorgânicos - Luz
	Fontes de Carbono (C), Hidrogênio (H), Oxigênio (O)	- Orgânicos (Heterotróficos): Açúcares, Proteínas - Inorgânicos (Autotróficos): CO₂
	Fontes de N	- Orgânicos: NH₄⁺ - Inorgânicos: NO₂⁻, NO₃⁻ - N₂ (fixadoras de nitrogênio).
	Fontes de P e S	- HPO₄²⁻ - SO₄²⁻
Micronutrientes	Fontes de outros Elementos (sais minerais)	- Na⁺, K⁺, Mg⁺⁺, Fe⁺⁺⁺ - Traços de Zn⁺⁺, Mn⁺⁺, Co⁺⁺, Mo⁺⁺⁺, Se⁺⁺
Fatores de Crescimento		- Vitaminas - Aminoácidos - Fatores presentes no SANGUE
pH		- Acidófilos - Neutrófilos (pH 5-9) - Alcalófilos
Osmolaridade		~ solução fisiológica (0,9% NaCl)

3. Nutrientes necessários para o cultivo

3.3. Fatores de Crescimento

- Vitaminas
- Aminoácidos
- Fatores presentes no SANGUE



Ágar Sangue (meio completo suplementado com 5% de sangue desfibrinado de carneiro adicionado ao meio quando este estava abaixo de 40°C):

Colônias de bactéria *Neisseria gonorrhoeae* cultivadas.



Ágar Chocolate (meio completo suplementado com 5% de sangue desfibrinado de carneiro adicionado ao meio sólido quando este ainda estava quente):

Colônias de bactéria *Haemophilus influenzae* cultivadas.

Vitaminas
 Comuns necessárias para a nutrição de algumas bactérias

3.3. Fatores de Crescimento
 (continuação)

Vitamin	Coenzyme form	Function
p-Aminobenzoic acid (PABA)	-	Precursor for the biosynthesis of folic acid
Folic acid	Tetrahydrofolate	Transfer of one-carbon units and required for synthesis of thymine, purine bases, serine, methionine and pantothenate
Biotin	Biotin	Biosynthetic reactions that require CO ₂ fixation
Lipoic acid	Lipoamide	Transfer of acyl groups in oxidation of keto acids
Mercaptoethane-sulfonic acid	Coenzyme M	CH ₄ production by methanogens
Nicotinic acid	NAD (nicotinamide adenine dinucleotide) and NADP	Electron carrier in dehydrogenation reactions
Pantothenic acid	Coenzyme A and the Acyl Carrier Protein (ACP)	Oxidation of keto acids and acyl group carriers in metabolism
Pyridoxine (B ₆)	Pyridoxal phosphate	Transamination, deamination, decarboxylation and racemation of amino acids
Riboflavin (B ₂)	FMN (flavin mononucleotide) and FAD (flavin adenine dinucleotide)	Oxidoreduction reactions
Thiamine (B ₁)	Thiamine pyrophosphate (TPP)	Decarboxylation of keto acids and transaminase reactions
Vitamin B ₁₂	Cobalamine coupled to adenine nucleoside	Transfer of methyl groups
Vitamin K	Quinones and naphthoquinones	Electron transport processes

4. Condições de Cultivo

4.1. pH

A maioria das bactérias de interesse médico crescem com máxima velocidade em pH 7

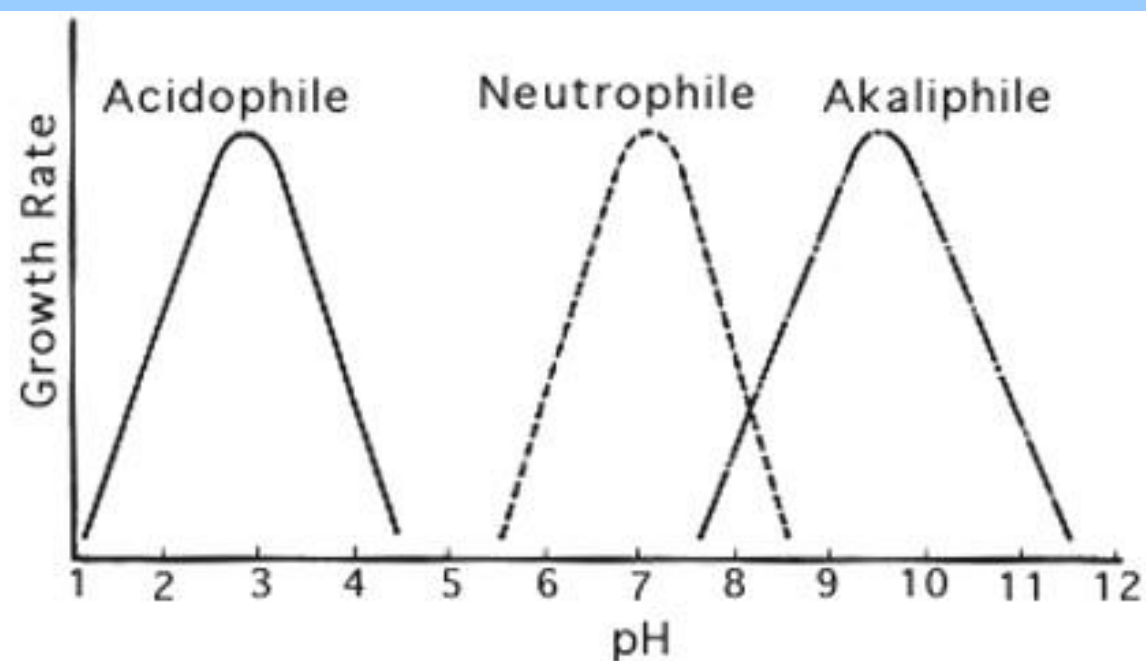


Fig. Taxa de crescimento versus pH de três tipos de procariontes.

Cada bactéria cresce em máxima velocidade quando é incubada no seu pH ótimo específico.

O pH ótimo de crescimento da maioria das bactérias de vida livre apresenta um intervalo de cerca de três unidades. Veja a simetria das curvas abaixo e acima deste pH ótimo.

Fora destes intervalos de pH ótimo específico para cada bactéria, o crescimento não ocorre.



Opa!
Você sabe de alguma exceção?

4. Condições de Cultivo

4.1. pH (continuação)

pH Mínimo, Ótimo e Máximo para o crescimento de alguns procariotos

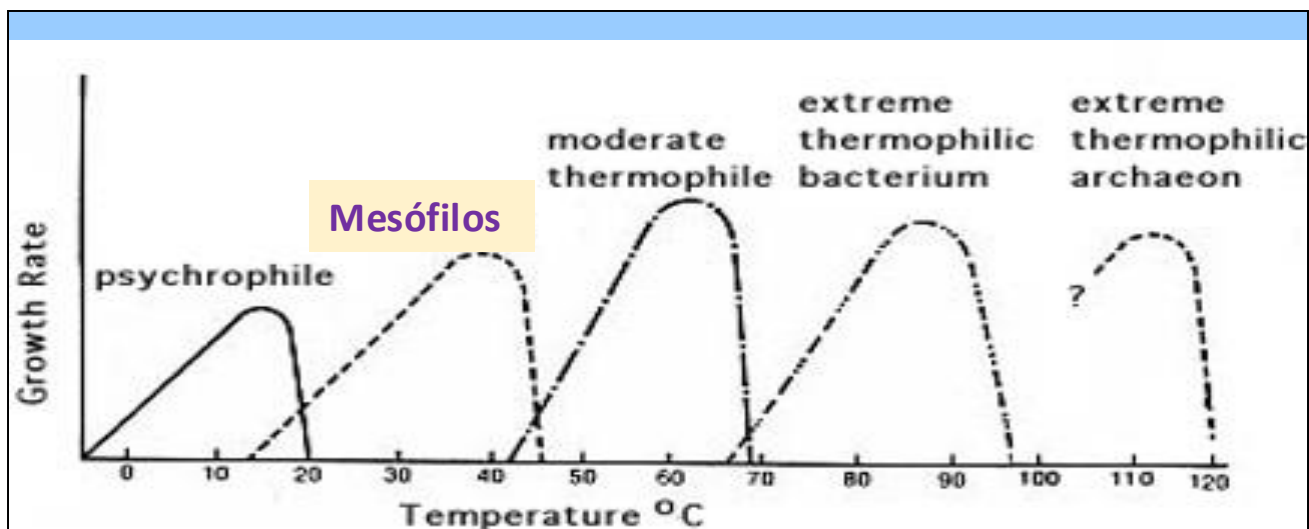
Organismo	pH mínimo	pH ótimo	pH máximo
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	0.5	2.0-2.8	4.0-6.0
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	1.0	2.0-3.0	5.0
<i>Bacillus acidocaldarius</i>	2.0	4.0	6.0
<i>Zymomonas lindneri</i>	3.5	5.5-6.0	7.5
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	4.0-4.6	5.8-6.6	6.8
<i>Staphylococcus aureus</i>	4.2	7.0-7.5	9.3
<i>Escherichia coli</i>	4.4	6.0-7.0	9.0
<i>Clostridium sporogenes</i>	5.0-5.8	6.0-7.6	8.5-9.0
<i>Erwinia caratovora</i>	5.6	7.1	9.3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5.6	6.6-7.0	8.0
<i>Thiobacillus novellus</i>	5.7	7.0	9.0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6.5	7.8	8.3
<i>Nitrobacter</i> sp	6.6	7.6-8.6	10.0

4. Condições de Cultivo

4.2. Temperatura

Temperatura

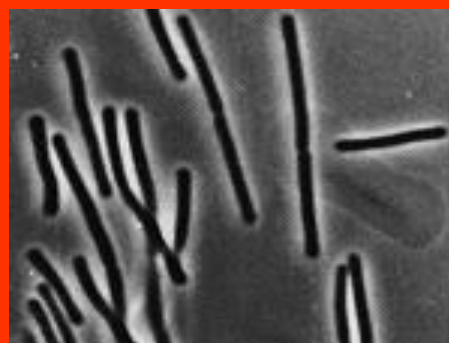
- **Psicrófilos**
- **Mesófilos** (maioria das bactérias de interesse médico)
- **Termófilos**



Cada bactéria cresce em máxima velocidade quando é incubada sua temperatura ótima de cultivo.

Fora destes intervalos de temperatura, a velocidade do cultivo diminui.

A maioria das bactérias de interesse médico crescem com máxima velocidade a 37 °C.



Thermus aquaticus

Min. 40 °C

Ótima: 70-72 °C

Máxima: 79 °C



Thermus aquaticus



é uma espécie de bactéria que pode tolerar altas temperaturas, uma das várias bactérias termofílicas que pertencem ao filo Deinococcota.



É a fonte da enzima resistente ao calor Taq DNA polymerase, uma das enzimas mais importantes em biologia molecular devido ao seu uso na técnica de amplificação de DNA por reação em cadeia da polimerase (PCR).



T. Aquaticus foi isolada perto do principal Gêiser Great Fountain e do Gêiser White Dome,

Fonte: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=437283>

Quando os estudos de organismos biológicos em fontes termais começaram na década de **1960**, os cientistas pensaram que a vida de bactérias termofílicas não poderia ser sustentada em temperaturas acima de cerca de 55 °C.



Fontes termais com algas e bactérias no Parque Nacional de Yellowstone.

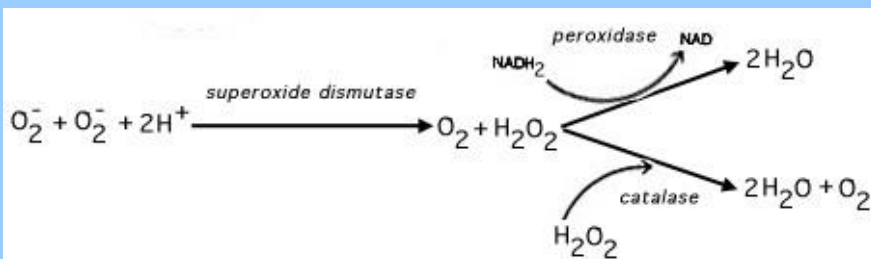
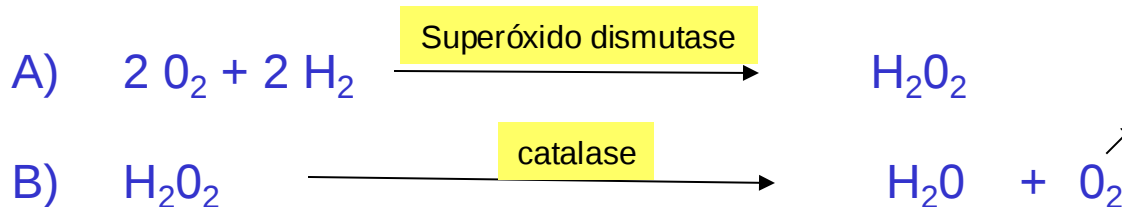
4. Condições de Cultivo

4.3. Concentração de Oxigênio

Quanto a capacidade de cultivo na presença de Oxigênio (atmosfera), as bactérias podem ser:

- Aeróbias Obrigatórios
- Aeróbias Facultativas
- Anaeróbias Facultativos
- Anaeróbias Estritas

O metabolismo aeróbio gera radicais de oxigênio. Bactérias aeróbias tem enzimas que conferem resistência a estes radicais. De modo simplificado, veja abaixo:



A distribuição das enzimas

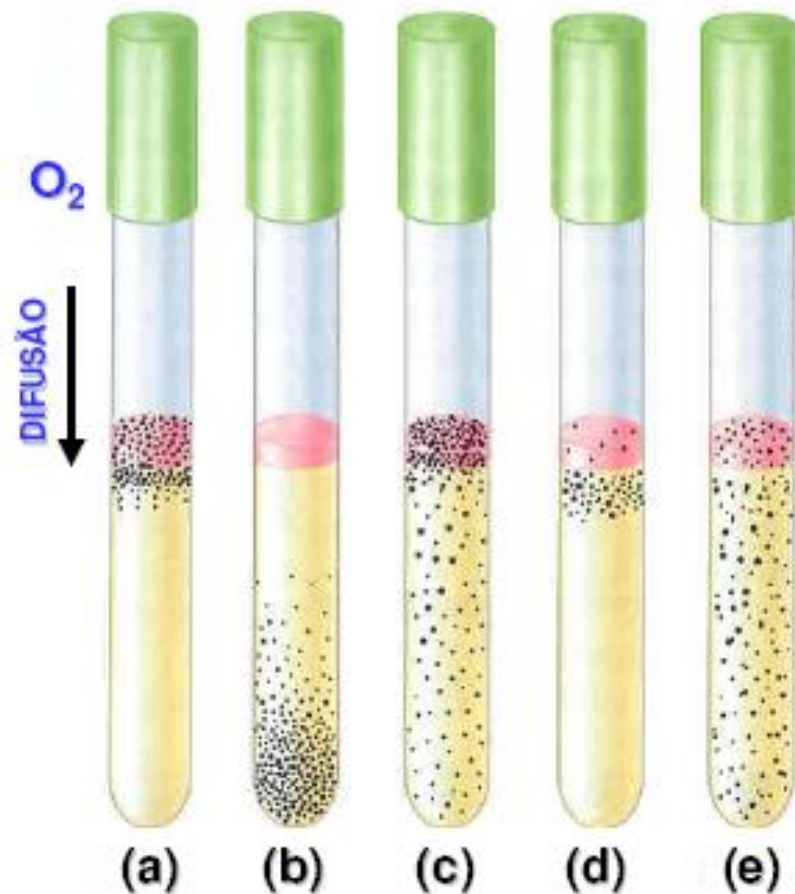
- superóxido dismutase (SOD),
- catalase, e
- peroxidase

em células determina a sua capacidade de existir na presença de O_2 . Estas enzimas desintoxicam as células de radicais livres de oxigênio, que são inevitavelmente gerados pelos seres vivos que vivem na presença de O_2 .

4. Condições de Cultivo

4.3. Concentração de Oxigênio (continuação)

CARACTERIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS QUANTO AO METABOLISMO DE O₂



Crescimento em meio líquido

- a) Aeróbias obrigatórias — Ex. *Pseudomonas*
- b) Anaeróbias — Há estritas (*Clostridium*) e não estritas
- c) Aeróbias Facultativas — Ex. *Escherichia coli* (crescem mais rapidamente em presença de O₂)
- d) Microaerófilas — Crescem em tensão intermediária de O₂
- e) Anaeróbias Aerotolerantes — Crescem de modo semelhante independentemente da em tensão de O₂

4. Condições de Cultivo

4.3. Concentração de Oxigênio (continuação)

1

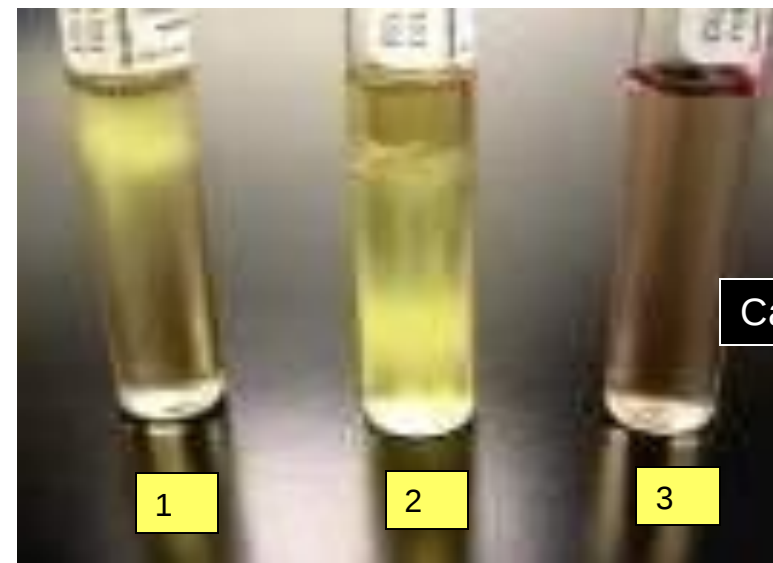
Aeróbios Obrigatórios
Ex. *Pseudomonas spp.*

2

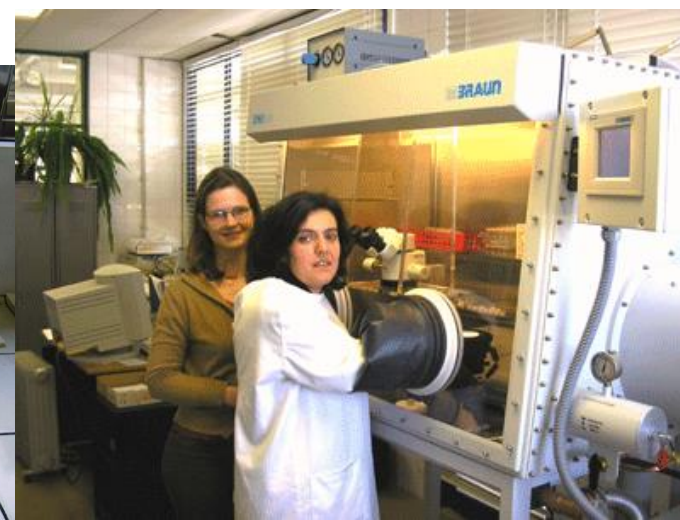
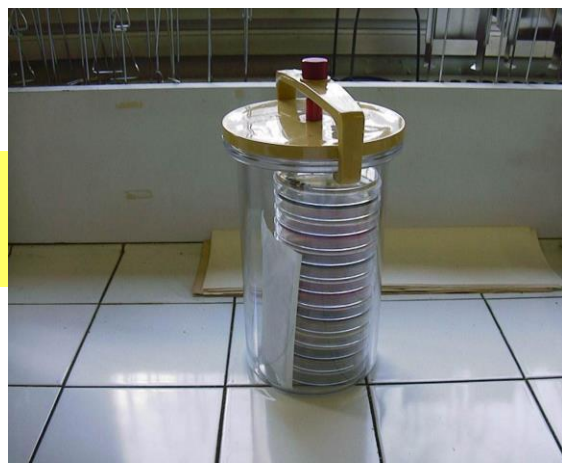
Facultativos
Ex. *Escherichia coli*

3

Anaeróbios Obrigatórios
Ex. *Clostridium tetani*



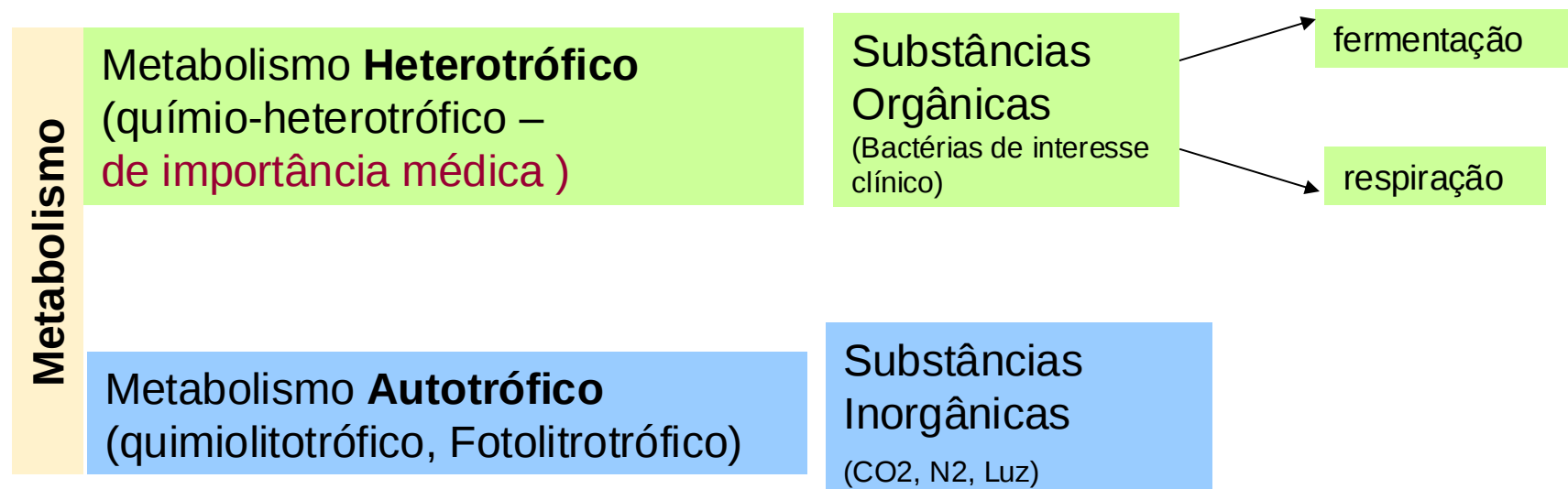
Caldo tioglicolato



5. Metabolismo – Alguns comentários

As bactérias apresentam uma enorme diversidade evolutiva, resultando em grande diversidade de metabolismo. Assim, há bactérias que apresentam capacidade de:

- Hidrolisar diferentes compostos,
- Produzir diferentes Enzimas (induzidas ou não),
- Produzir diferentes Toxinas,
- Produzir diferentes Fatores de Virulência, como: adesão, invasão, etc



5. Metabolismo – Alguns comentários (continuação)

Metabolismo **Heterotrófico** (químio-heterotrófico –
de importância médica)

O metabolismo HETEROTRÓFICO é típico de:

- Animais
- Bactérias **de interesse clínico**,
- Bactérias que fazem biorremediação ambiental – processo ligado à Saúde humana e Animal,
- Poucas arqueias que vivem em associação com animais

Catabolismo:

Quebra de compostos mais complexos em compostos mais simples, através de reações químicas que empregam enzimas. Estas reações geralmente Liberam Energia.

Exs.: hidrólise, queima de açúcares em $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$.

Anabolismo:

Construção de moléculas orgânicas complexas a partir de moléculas mais simples. Estas reações geralmente Requerem Energia.

Exs.: formação de proteínas a partir de aminoácidos, polissacarídeos a partir de açúcares simples.

5. Metabolismo – Alguns comentários (continuação)



Como a Célula Funciona?

A “Moeda” da célula é o **ATP**



Fermentação → 1 Glicose → Piruvato + 2 ATP

Respiração

Presença de O_2

Glicose → CO_2 + H_2O + 36 ATP

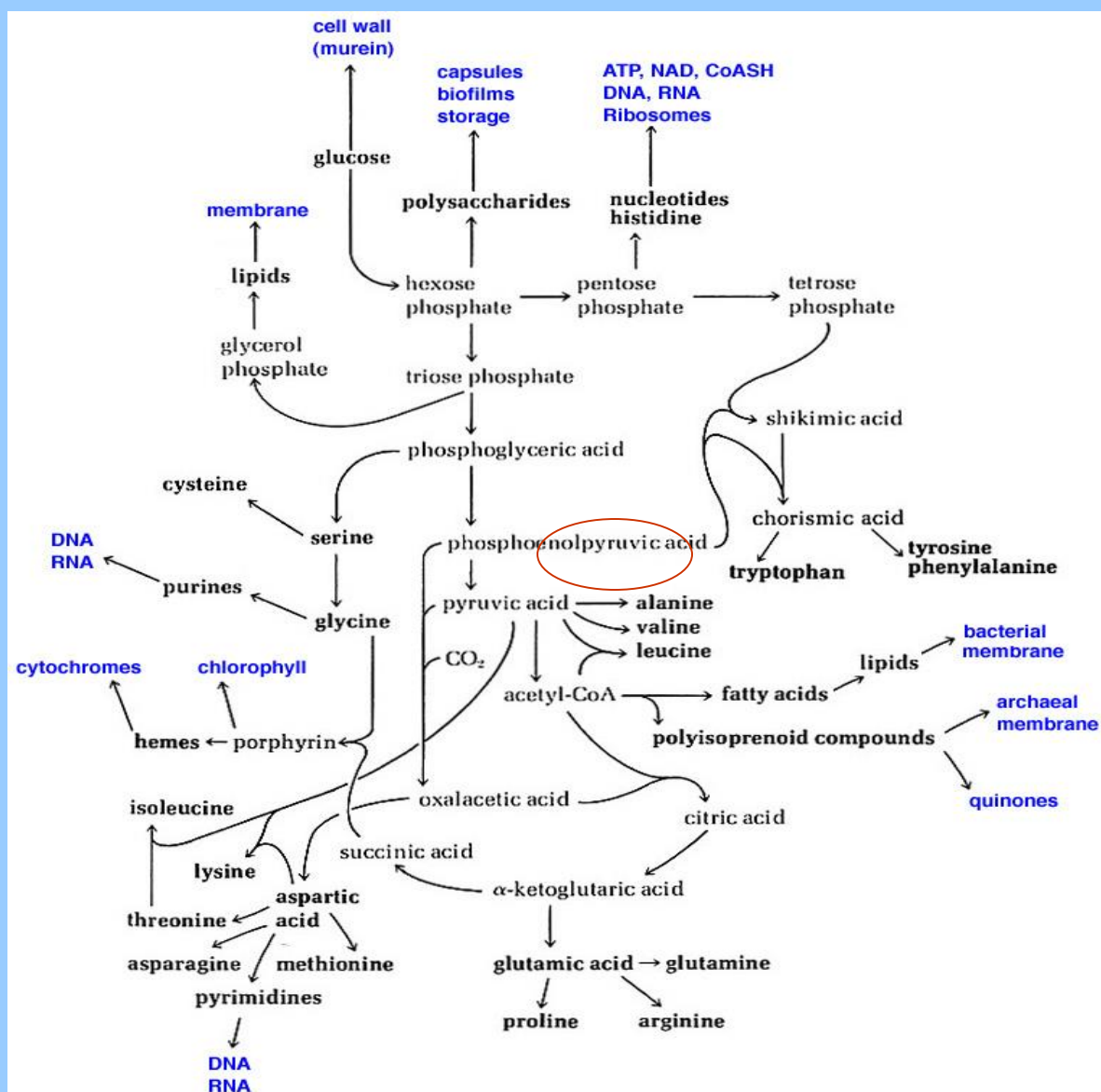
Ausência de O_2

Glicose → CO_2 + H_2O + 2 ATP

A **respiração anaeróbia** ocorre em bactérias. Nestas condições o aceptor final de elétrons não é o oxigênio.

- Aceptor final de elétrons: NO_3^- ou SO_4^{++}
- Menor rendimento de ATP que microrganismos aeróbios

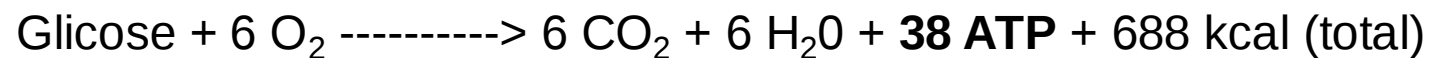
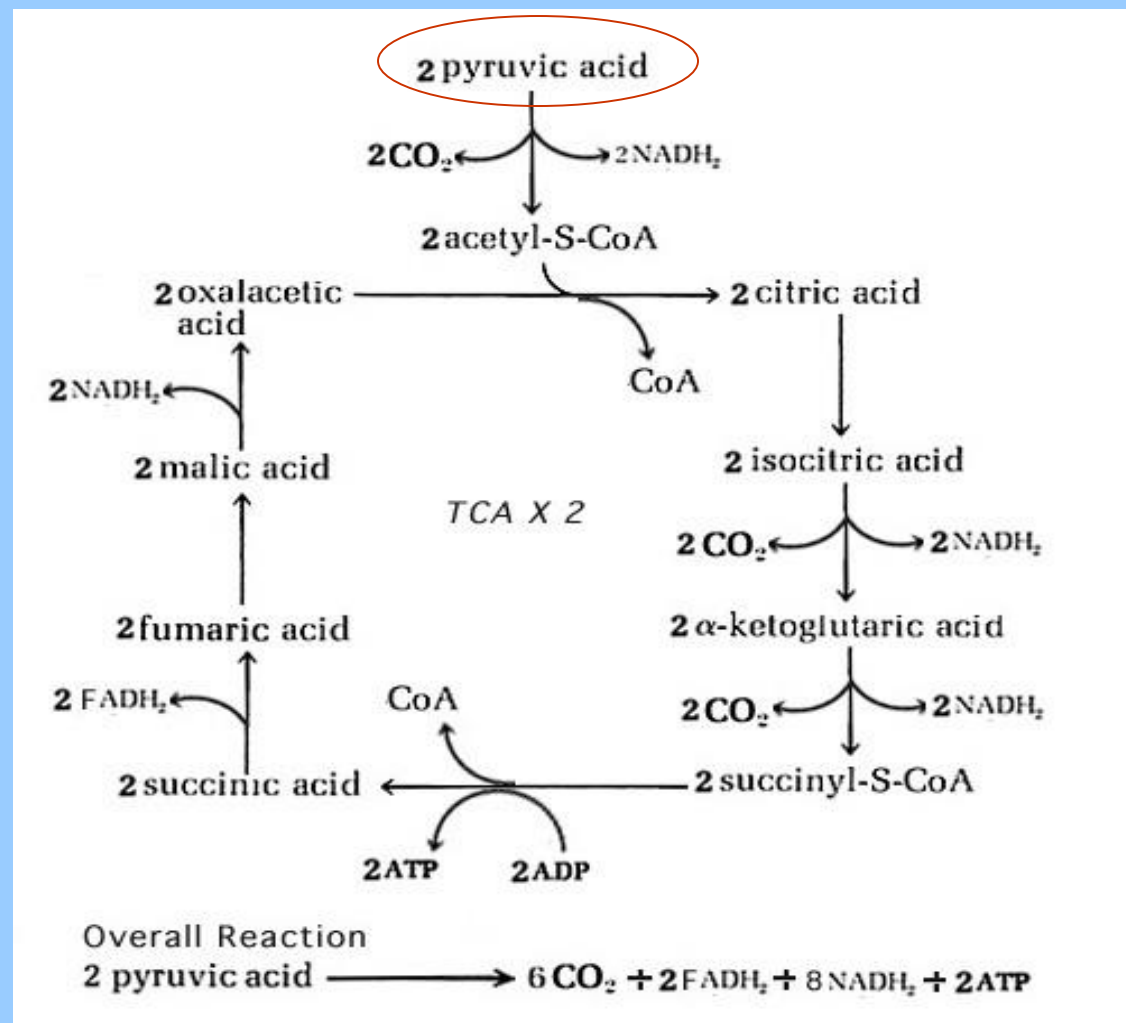
5. Metabolismo – Alguns comentários (continuação)



Principais vias de biossíntese em procariotos.

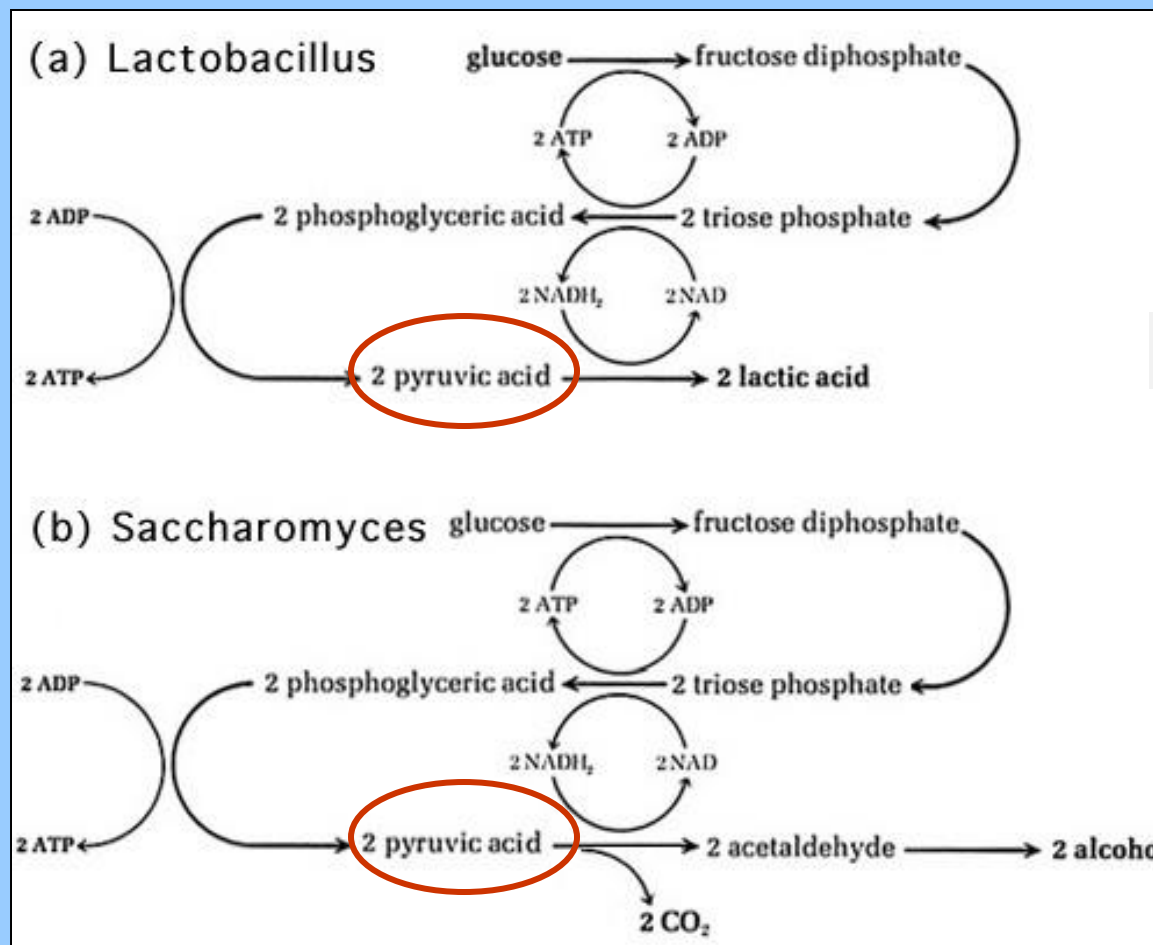
5. Metabolismo – Alguns comentários (continuação)

Respiração Aeróbica



5. Metabolismo – Alguns comentários (continuação)

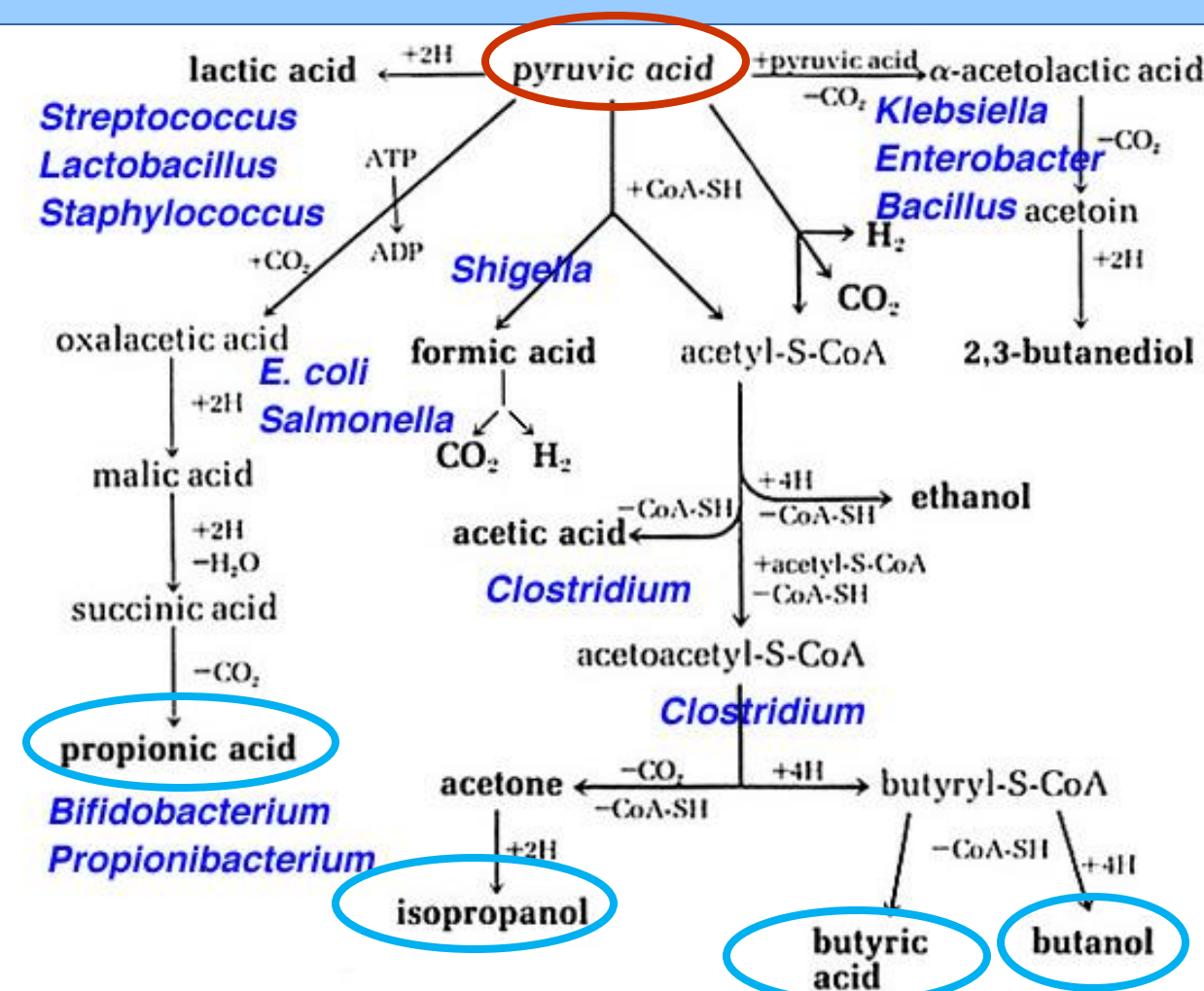
Fermentação



As etapas da fermentação dos dois microrganismos são idênticas até a formação de **piruvato**, as diferenças finais são decorrentes da maneira com que o piruvato é reduzido.

5. Metabolismo – Alguns comentários (continuação)

Fermentação



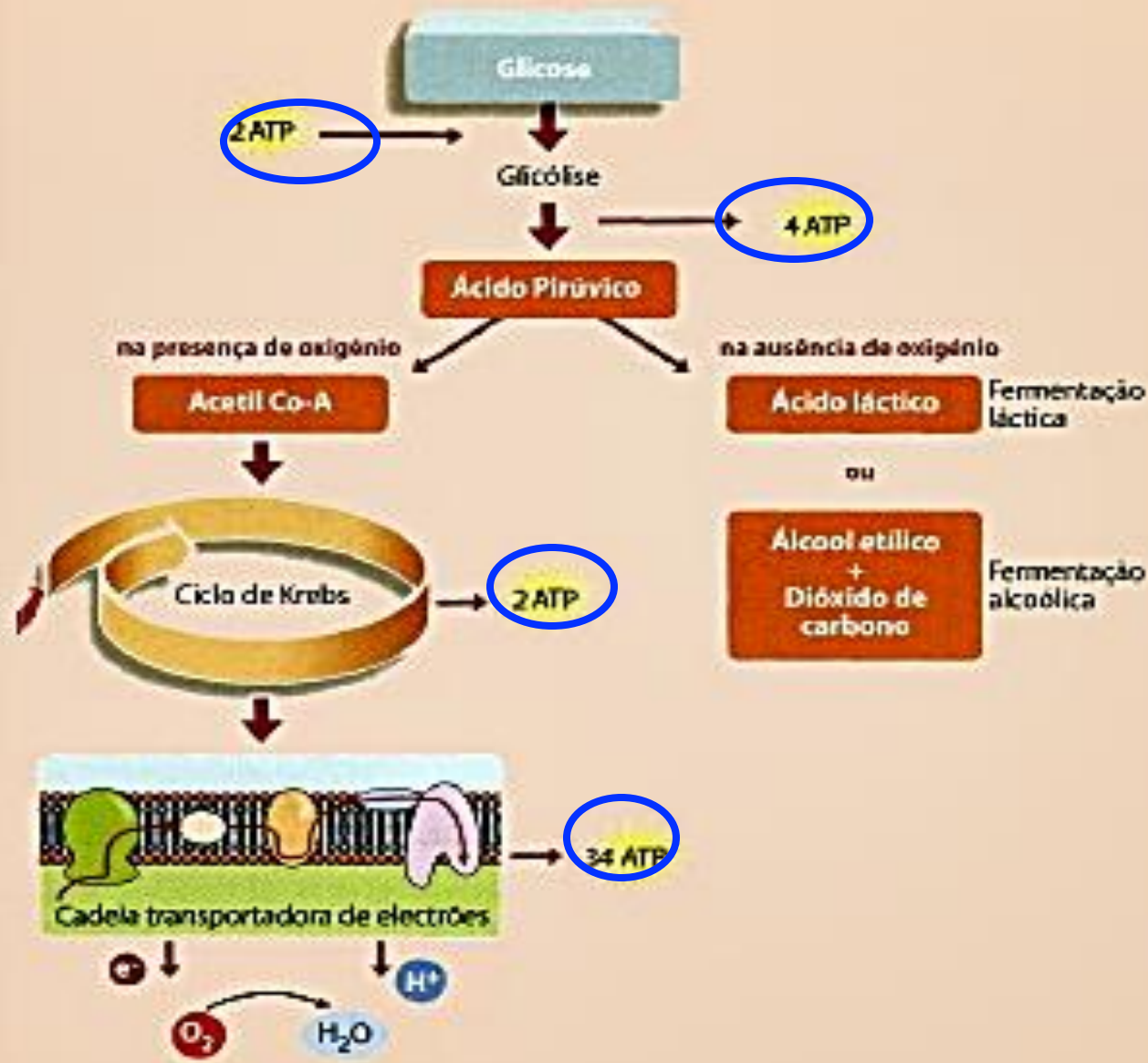
Algumas vias de fermentação de bactérias. Veja a produção de diferentes **metabolitos finais**.

5. Metabolismo – Alguns comentários (continuação)

Fermentação

X

Respiração



Efeito do metabolismo bacteriano

Em Meios de Cultura

1 Molécula de Glicose

Respiração
38 ATP

Resulta na
alcalinização
do meio

Fermentação
2 ATP

Resulta na
acidificação do
meio

Maior quantidade
de glicose é
necessária para a
produção da
mesma quantidade
de ATP

6. Meios de Cultura

6.1. Tipos de meios: Meios Líquidos e Meios Sólidos

Meio de Cultura líquido (ou caldo)



São empregados para:

- Acompanhamento de curva de Crescimento,
- Isolamento de moléculas para análises bioquímicas

Ex.: - Caldo Nutriente

- LB
- TSB

Meio de Cultura sólido

Têm a mesma composição química que os meios de cultura líquido acrescidos de 2% ágar-ágar. Ex.:

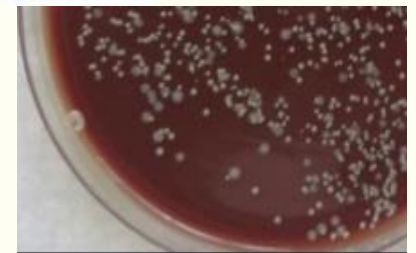
- Caldo Nutriente / Ágar-Nutriente
- LB / LA
- TSB / TSA

São empregados para:

- Obtenção de colônias isoladas de bactérias,
- Isolamento de bactérias



Ex.: Isolamento de *Neisseria gonorrhoeae* em Ágar Thayer-Martin chocolate



6. Meios de Cultura

6.2. Meio mineral, Meios Completos, Meios Diferenciais, Meios Seletivos, Meios Diferenciais e Seletivos

Mais detalhes: Aula MB-T/P1 - Cultivo microbiano (tópico 28)

1. Meio Mineral (ou Meio Mínimo)

Contem somente Sais Minerais e uma Fonte de Carbono como o açúcar glicose.

Ex. Meio M9. Cresce neste meio: *E. coli*

2. Meios Completos (ou Meio Complexo)

Proteína hidrolisada com ou sem açúcar.

Ex. - Caldo Nutriente / Ágar-Nutriente

- LB / LA
- TSB / TSA

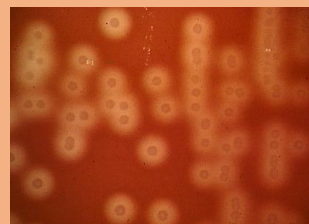
3. Meios Diferenciais

Meio de cultura complexo acrescido de substâncias e indicadores que permitem a **DIFERENCIAÇÃO VISUAL** de colônias bacterianas



Ágar MacConkey

Contem somente o açúcar lactose e o indicador vermelho
neutro: -Lac+:
vermelha
-Lac- : branca



Ágar sangue

Contem sangue desfibrinado de carneiro:

Visualização do padrão de hemólise.

4. Meios Seletivos

Meio de cultura complexo acrescido de substâncias e inibidoras de crescimento, permitem o crescimento de apenas algumas bactérias.



Ágar MacConkey

Contem o inibidor de crescimento sais biliares.

Inibe o crescimento de bactérias Gram-positivas. Somente crescem Gram-negativas.



Ágar Manitol salgado

Contem o alta concentração de NaCl (7,5%) que impede o crescimento de muitas bactérias e permite o cultivo e seleção da bactéria *Staphylococcus aureus*

5. Meios Diferencias e Seletivos

Meio de cultura complexo que reúnem as qualidades de ser seletivo e também de ser diferencial.



Ágar MacConkey



Ágar Thayer-Martin chocolate (Para *Neisseria*)



Ágar Manitol salgado



Ágar Cetrimide (Para *Pseudomonas*)

7. Controle do Crescimento bacteriano

- Descontaminação microbiana presente no ambiente:

Esta ação deverá ser promovida pelo emprego de “**Agentes desinfetantes**” que podem ser físicos ou químicos, dependendo do material a ser tratado e da intensidade de tratamento desejada.

Este TEMA será apresentado em nossa próxima **Aula**.

- Descontaminação microbiana presente da pele ou mucosa:

Esta ação deverá ser promovida pelo uso de “**Agentes antissépticos**” que geralmente são químicos.

Este TEMA será apresentado em nossa próxima **Aula**.

- Combater uma infecção bacteriana que se estabelece no organismo humano:

Uma das principais ferramentas utilizadas é o uso de **Antibióticos**.

Este TEMA será apresentado em nossa próxima **Aula**.

Aula Prática relacionada:

Controle do crescimento bacteriano.

Continue nos
acompanhando!



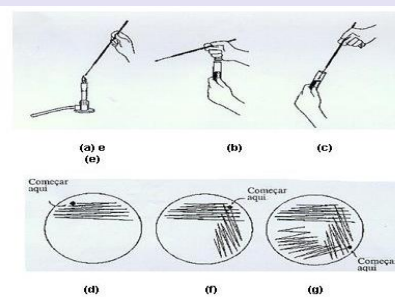
8. Questões para Estudo – Resolva e confira em nossa próxima postagem

1. Desenhe uma Curva de crescimento bacteriano e explique cada uma de suas fases.
2. Quais são os nutrientes mínimos necessários para o crescimento bacteriano?
3. O que são macronutrientes e micronutrientes? Cite alguns deles.
4. O que é meio de cultura diferencial? Cite um exemplo.
5. O que é meio de cultura seletivo? Cite um exemplo.
6. Existem meios de cultura diferenciais e seletivos? Cite um exemplo.
7. Como é feito o cultivo de bactérias anaeróbias?
8. Quando uma célula da bactéria *E. coli* é semeada em meio sólido Ágar Nutriente e é cultivada a 37 °C, ela se divide em duas a cada 20 minutos, após ter atingido a fase exponencial de crescimento. Suponha que numa segunda-feira, as 17:00 horas, foi realizada uma semeadura por esgotamento* da bactéria *E. coli* neste meio. Suponha que há uma fase lag de 2 horas, quantas bactérias devem estar presentes em cada uma das colônias isoladas na terça-feira seguinte, as 16:00 horas?

Esta cá um desafio,
Aí, topas ?



Obs: *Semeadura por esgotamento é aquele tipo de semeadura feito com alça platina em meio sólido, quando se deseja obter colônias isoladas derivadas do cultivo no local onde foi inoculada uma única célula bacteriana (Fig. ao lado).



Exercícios, lembre-se:

- Sabendo-se de o tempo de geração de *E. coli* é de 20 minutos, partindo-se de uma única célula quantas células bacterianas serão obtidas após 1 hora de cultivo?

1 hora

R: Em 1 hora de cultivo (60 minutos) teremos 3 gerações (n=3)

$$\text{Então: } X = x_0 \cdot 2^n$$

$$X = 1 \cdot 2^3$$

$$X = 8$$

- E após X horas de cultivo?

3 horas

R. Teremos 3 gerações a cada hora, 9 gerações (n=9)

$$\text{Então: } X = x_0 \cdot 2^n$$

$$X = 1 \cdot 2^9$$

$$X = 8 \cdot 8 \cdot 8 = 512$$

4 horas

R. 12 gerações (n=12)

$$\text{Então: } X = x_0 \cdot 2^{12}$$

$$X = 2^9 \cdot 2^3 = 512 \cdot 8 = 4.086$$

12 horas

R. Número de gerações= 12 . 3 (n=36)

$$\text{Então: } X = x_0 \cdot 2^{36}$$

$$X = 2^9 \cdot 2^9 \cdot 2^9 \cdot 2^9 = 512 \cdot 512 \cdot 512 \cdot 512 = \mathbf{6,86 \cdot 10^{10}}$$

24 horas

R. Número de gerações= 24 . 3 (n=72)

$$\text{Então: } X = x_0 \cdot 2^{72}$$

$$X = 2^{36} \cdot 2^{36} = \mathbf{4,7 \cdot 10^{21}}$$

5. (**Solução**) Quando uma célula da bactéria *E. coli* é semeada em meio sólido Agar Nutriente e é cultivada a 37°C, ela se divide em duas a cada 20 minutos, **após ter atingido a fase exponencial de crescimento**.

Na aula prática da segunda-feira foram semeadas, por esgotamento, colônias de *E. coli* (16:00), imaginando-se que há uma fase **lag de 2 horas**, quantas bactérias podem estar presentes em cada colônia na terça-feira as 16:00hs?

R.: Teremos 24 horas de cultivo.

24 horas – 2 horas de lag = 22 horas de crescimento exponencial

Número de gerações = 22. 3 (n=66)

Então: $X = x_0 \cdot 2^{66}$

$X = 2^9 \cdot 2^9 \cdot 2^9 \cdot 2^9 \cdot 2^9 \cdot 2^9 \cdot 2^9 \cdot 2^3 = 512 \cdot 512 \cdot 512 \cdot 512 \cdot 512 \cdot 512 \cdot 512 \cdot 8 =$

X=

Então, **matematicamente** teremos **$6,86 \cdot 10^{10}$**

Todavia:

Lembre-se que somente é **possível ter no máximo $1-2 \cdot 10^9$ bactérias em cada colônia**



Assim, **deve-se fazer a conta** e ter a certeza de **estar com a resposta correta**.

Aí, acertou a resposta?
Até a próxima!

