

MICROBIOLOGIA: DA TEORIA A PRÁTICA LOT2053

Profa. Tatiane da Franca Silva

2

HISTÓRIA DA MICROBIOLOGIA

Principais acontecimentos!

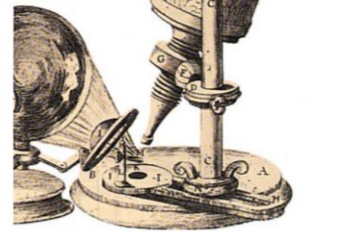


3



Robert Hooke:

- Primeira visualização dos microrganismos. Observação de bolores
- Conceito de célula



4

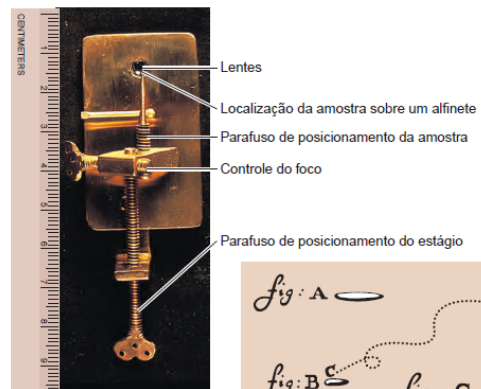


(a) Van Leeuwenhoek utilizando seu microscópio

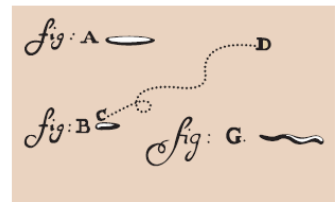


Anton van Leeuwenhoek:

- Desenvolve microscópios simples com até 300x de aumento.
- Observa pela primeira vez "animálculos", hoje reconhecidos como bactérias e protozoários.
- Considerado o "Pai da Microbiologia"



(b) Réplica de um microscópio



5



1664 1676 1796 1857 1876

Edward Jenner

- Desenvolve a primeira vacina da história, contra a varíola, usando material do vírus da vaca (cowpox).
- Início da Imunologia.



6



1664 1676 1796 1857 1876

Louis Pasteur

- Refuta a geração espontânea com o experimento do pescoço de cisne.
- Descobre a fermentação microbiana e propõe o conceito de germes como causadores de doenças.
- Cria vacina contra raiva _____
- Desenvolve a técnica da pasteurização.



7

EXPERIMENTO DE PASTEUR

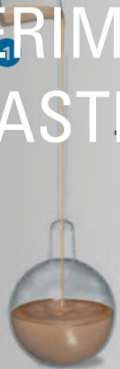
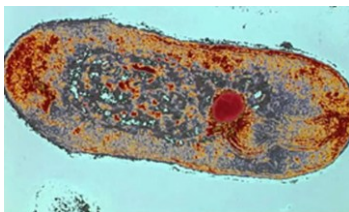


Figura 1.3 Os experimentos de Pasteur que refutaram a teoria da geração espontânea. ❶ Pasteur colocou, em primeiro lugar, caldo de carne dentro de um frasco de pescoço longo. ❷ Em seguida, ele aqueceu o pescoço do frasco e curvou-o no formato da letra S; então, ferveu o caldo de carne por vários minutos. ❸ Os micro-organismos não apareceram na solução resfriada, mesmo após longos períodos, como é possível ver nesta fotografia recente de um frasco utilizado por Pasteur em um experimento similar.

Fonte: Tortora et al., 2012

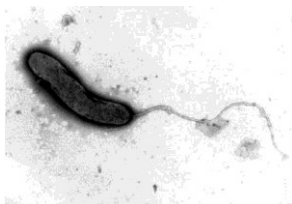
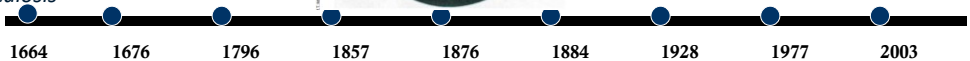
9



Mycobacterium tuberculosis



Robert Koch

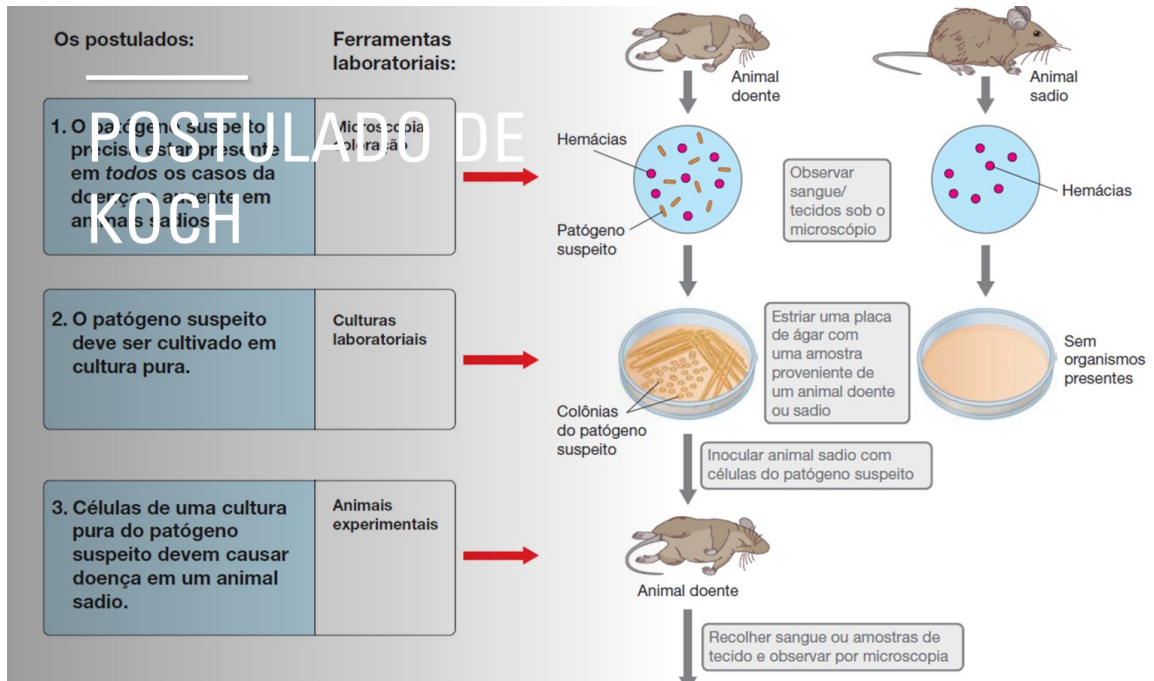


Vibrio cholerae

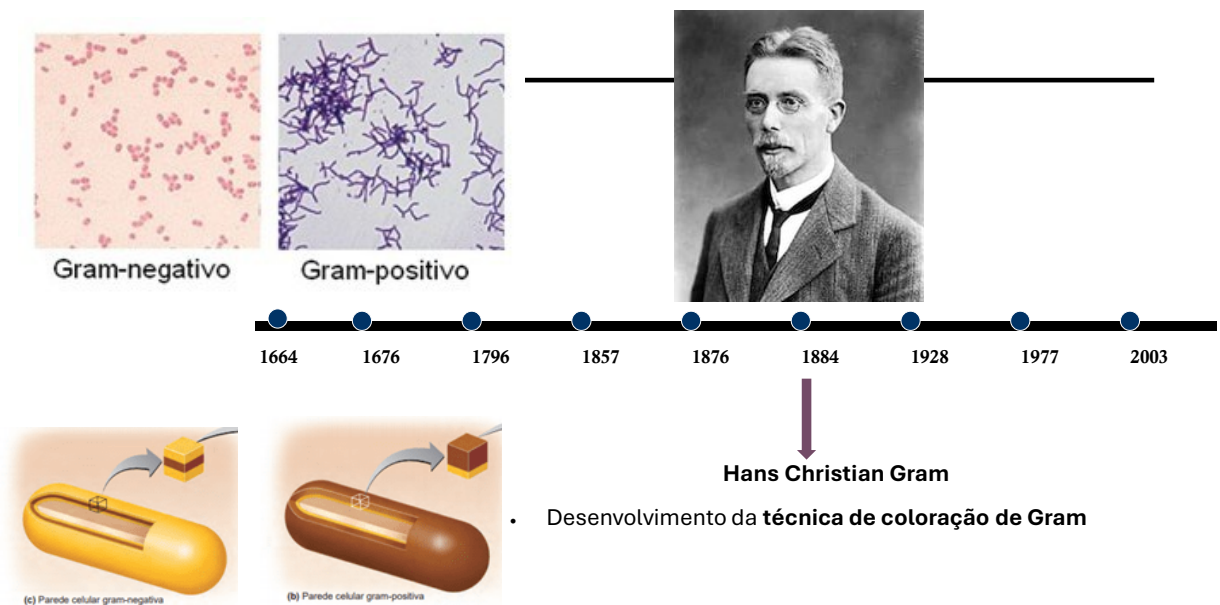
Propõe os Postulados de Koch para relacionar um microrganismo a uma doença específica.

- Descobre o agente causador da tuberculose (1882) e do cólera (1883).

10

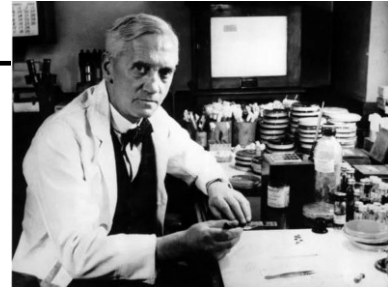
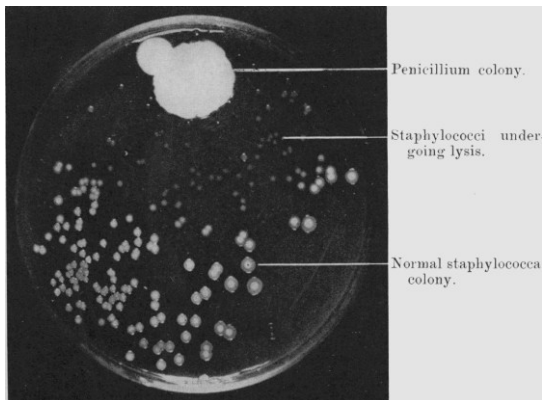


12



Fonte: Tortora et al., 2012

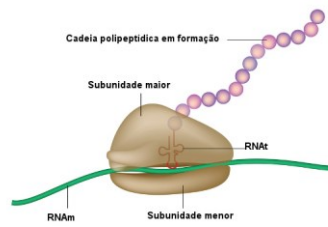
13



Alexander Fleming

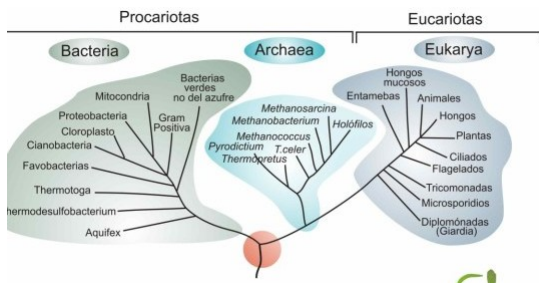
- Descobre a **penicilina**, o primeiro antibiótico, a partir do fungo *Penicillium notatum*.

14

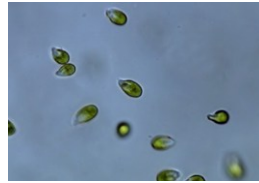


Carl Woese

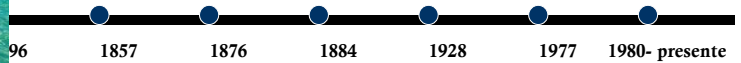
- sistema de classificação dos seres vivos com base no RNA ribossomal: Domínio Archaea.
- Divide a vida em três domínios: Bacteria, Archaea e Eukarya.



15



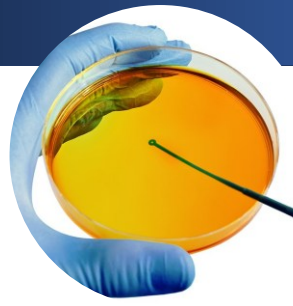
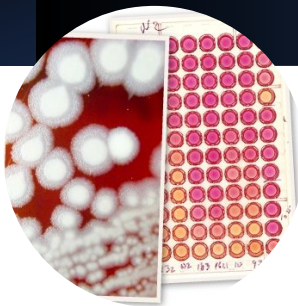
As microalgas *Dunaliella salina* presentes no Mar Morto e outros lagos hiper-salinos.
Fonte: [Researchgate](#).



- Descoberta de organismos extremófilos
 - Microbioma humano
- Uso de CRISPR-Cas9 para edição genética
 - Metagenômica

16

Microbiologia Clássica



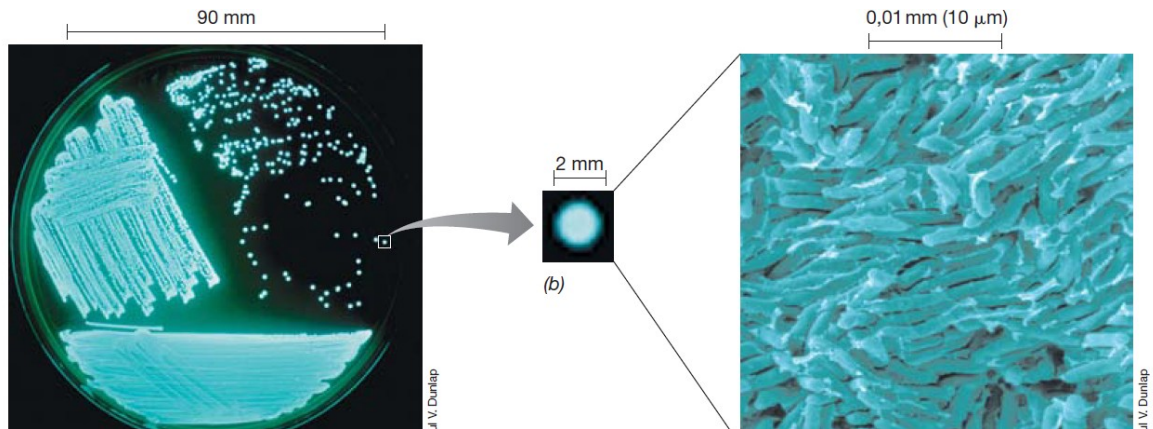
- Caracterização morfológica e Bioquímica
- Isolamento e Cultivo
- Microscopia

30

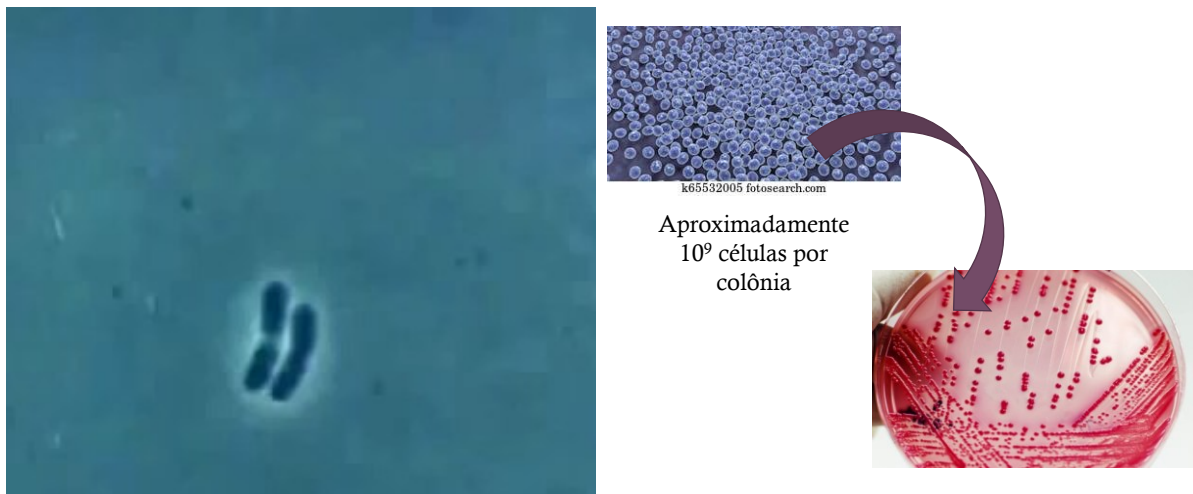
ISOLAMENTO DE MICROORGANISMOS

CONCEITO DE COLÔNIA PURA

- **Colônia visível** vem de um único esporo, célula vegetativa ou de um grupo dos mesmos microrganismos



31



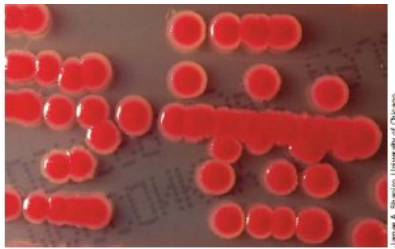
32

MORFOLOGIA DE COLÔNIAS BACTERIANAS

Pseudomonas aeruginosa



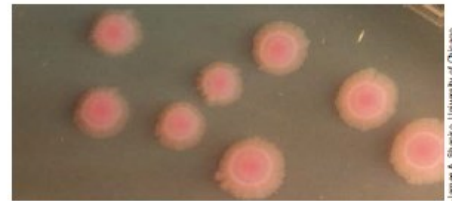
(c)



(b)

Serratia marcescens

Shigella flexneri



(d)

Fonte: Mandigan et al., 2016

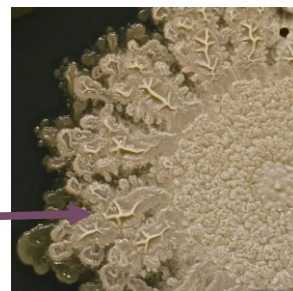
33



Essa é a pegada do filho de Storm

serratia

micrococcos



estafilococo

34

MORFOLOGIA DE COLÔNIAS DE FUNGOS

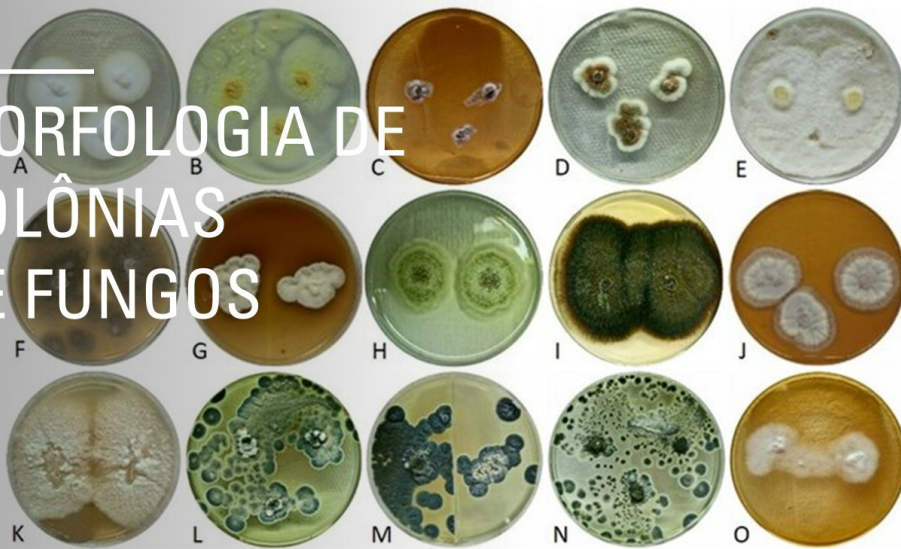
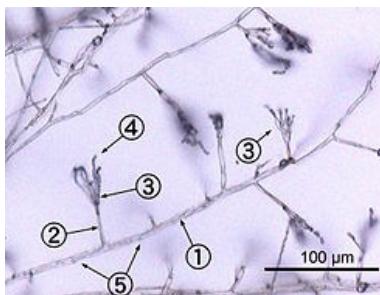
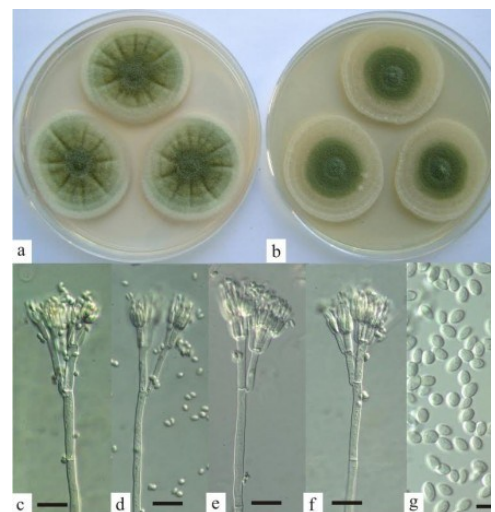


Figura 2: Morfologia dos fungos filamentosos isolados das águas da Bacia do Baixo Rio Tapajós, Pará, Brasil em meio de cultura MEA e BDA após 7 dias de incubação a 26°C. (A) *Acremonium* sp. BBRT 00. (B – E) *Aspergillus* sp. BBRT 01, 02, 03 e 04. (F – G) *Cladosporium* sp. BBRT 05 e 06. (H) *Colletotrichum* sp. BBRT 07. (I) *Curvularia* sp. BBRT 08. (J) *Fusarium* sp. BBRT 09. (K) *Mycelia sterilia* sp. BBRT 10. (L) *Paecilomyces* sp. BBRT 11. (M – N) *Penicillium* sp. BBRT 12 e 13. (O) *Talaromyces* sp. BBRT 14.

36

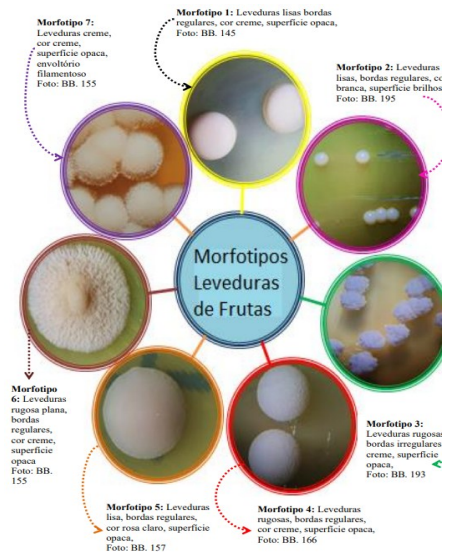
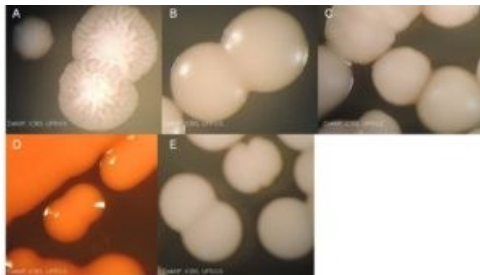
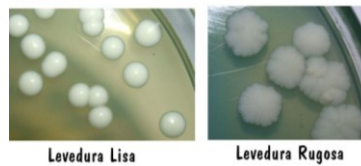


• *Penicillium*



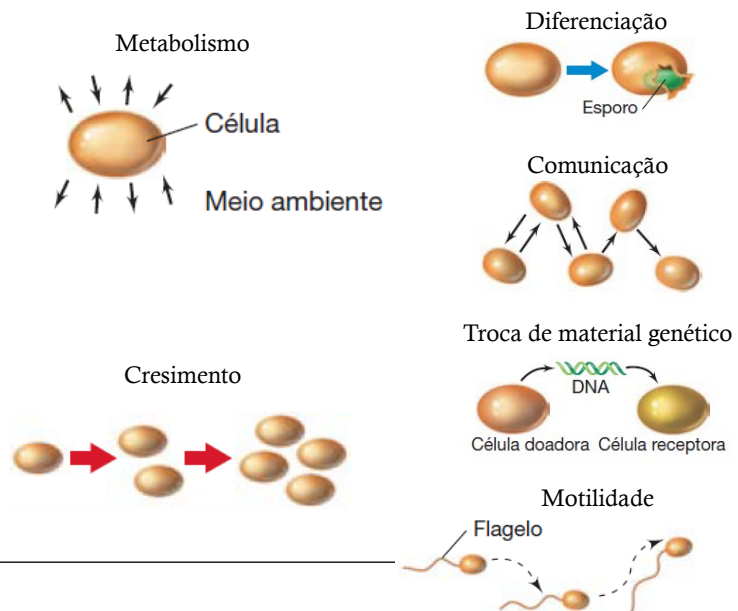
37

MORFOLOGIA DE COLÔNIAS DE LEVEDURAS



38

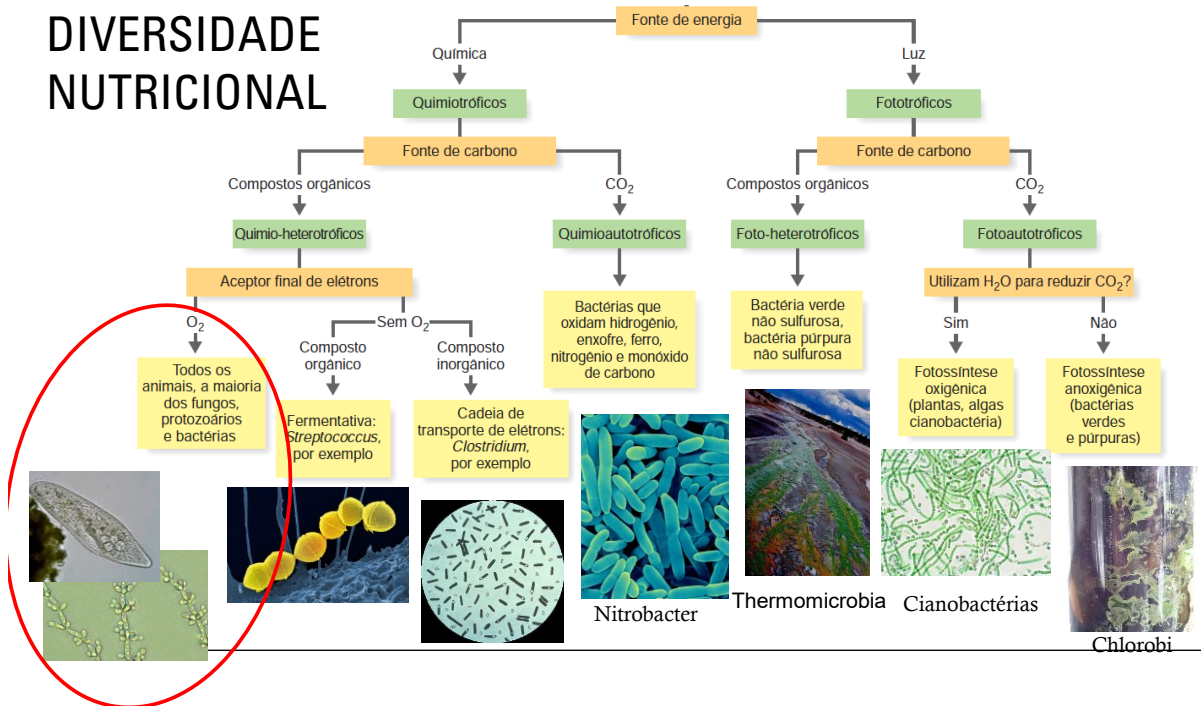
PROPRIEDADES DAS CÉLULAS MICROBIANAS



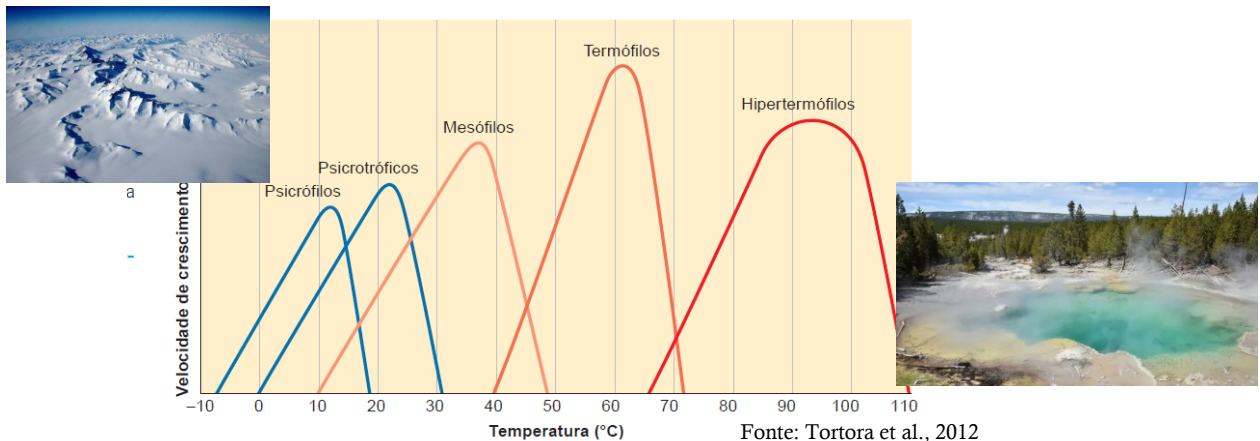
Fonte: Mandigan et al., 2016

39

DIVERSIDADE NUTRICIONAL



40

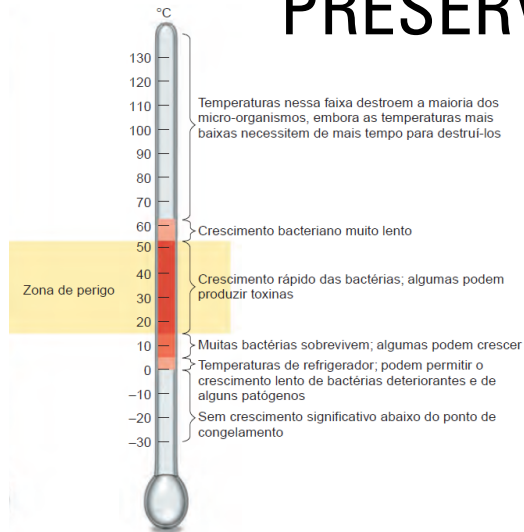


CRESCIMENTO MICROBIANO

Em resposta à temperatura

41

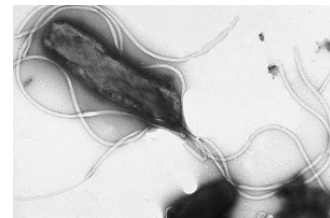
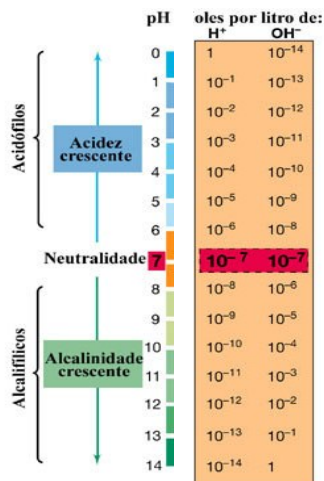
PRESERVAÇÃO DE ALIMENTOS



42

CRESCIMENTO MICROBIANO

Em resposta ao pH



H. pylori

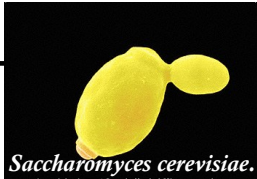


Lago Turkana, no Grande Vale do Rift (Quênia e Etiópia), que é o maior lago alcalino do mundo, com pH 9,4. Fonte da imagem: [National Geographic](#).

43

CRESCIMENTO MICROBIANO

Em resposta ao oxigênio



Saccharomyces cerevisiae.

	a. Aeróbicos obrigatórios	b. Anaeróbicos facultativos	c. Anaeróbicos obrigatórios	d. Anaeróbicos aerotolerantes	e. Microaerófilos
Efeito do oxigênio no crescimento	Somente crescimento aeróbico.	Crescimento aeróbico e anaeróbico; crescimento maior na presença de oxigênio.	Crescimento somente anaeróbico; não há crescimento na presença de oxigênio.	Crescimento somente anaeróbico, mas continua na presença de oxigênio.	Crescimento somente aeróbico; oxigênio requerido em baixa concentração.
Crescimento bacteriano em tubo com meio de cultura sólido					
Explicações para os padrões de crescimento	Crescimento somente em altas concentrações difundidas.	Crescimento melhor onde mais oxigênio está presente, mas ocorre em todo o tubo.	Crescimento somente onde não há oxigênio.	Crescimento igual; o oxigênio não tem efeito.	Crescimento onde há uma baixa concentração de oxigênio difundido.

Fonte: Tortora et al., 2012

44

CRESCIMENTO MICROBIANO

Em resposta a pressão osmótica

Halófilos extremos ou obrigatórios: adaptados a concentrações elevadas de sais (~30% de sal)

Halófilos facultativos: são capazes de crescer em ambientes de até 2% a 15% de sal

Halobacterium salinarum



Mar morto



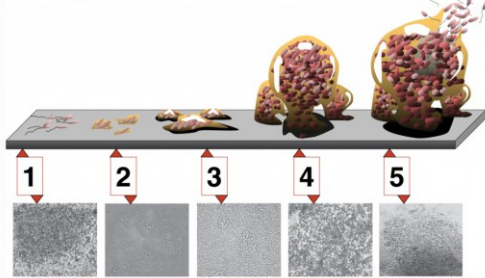
COLONIES OF *HALOBACTERIUM SALINARUM* GROWING ON SALT-SATURATED AGAR PLATE

46

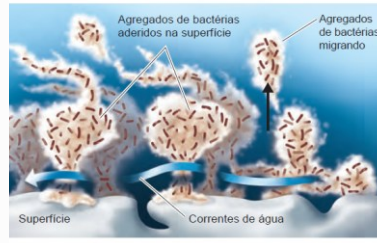
CRESCIMENTO MICROBIANO

Biofilme: comunidade de microorganismos dentro de uma matrix de polimeros fixado à um substrato.

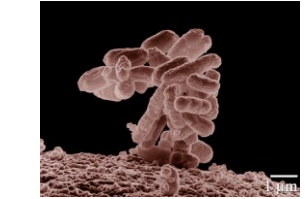
5 stages of Biofilm Development



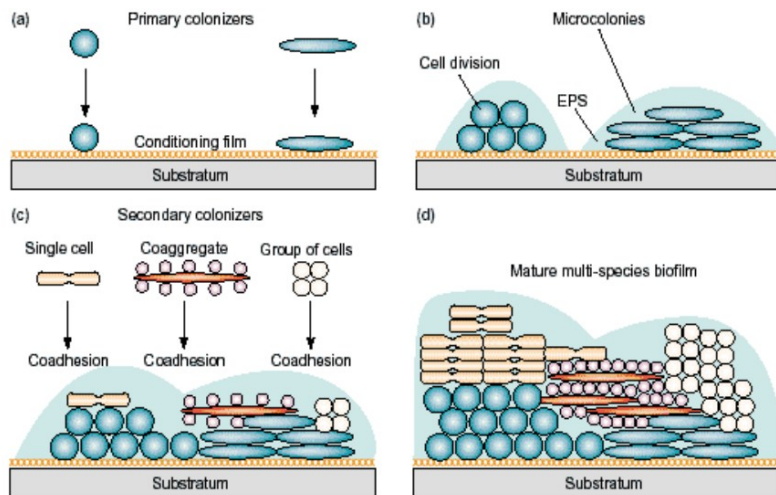
Referência da figura: Adaptado de Monroe D (2007) Looking for Chinks in the Armor of Bacterial Biofilms. PLoS Biol 5(11): e307. doi:10.1371/journal.pbio.0050307



correntes de água se movem, como mostrado pela seta azul, re os pilares de limo formados pelo crescimento das bactérias aridas nas superfícies sólidas. Isso permite um acesso eficiente ; nutrientes e uma remoção dos produtos residuais. Bactérias individuais formadoras de limo ou agregados de limo se desprendem e migram para um novo local. Veja a Figura 1.8.



47



TRENDS in Microbiology

48

BIOFILME

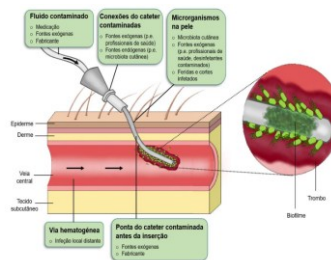
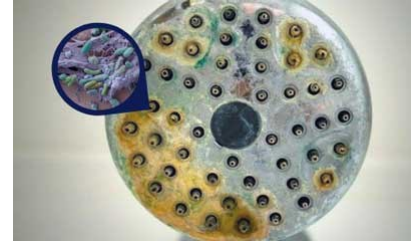
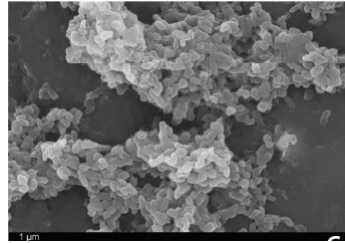
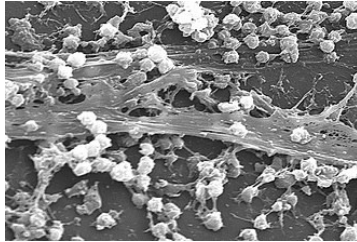


Figura 1 Potenciais fontes de contaminação em cateteres venosos centrais (CVCs) e formação de biofilme. Adaptado de: (14).



49

CRESCIMENTO MICROBIANO: MEIO DE CULTURA

Atender as exigências nutricionais

Devem ser fornecidos:

Fonte Carbono (C): glicose, amido, sacarose, dextrose,...

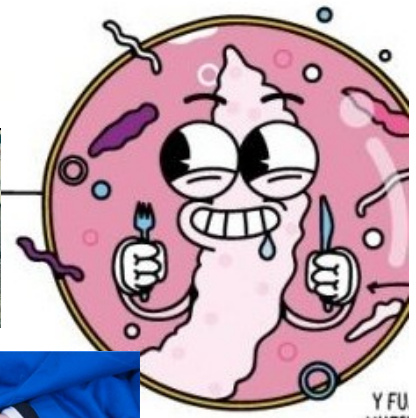
Nitrogênio (N)

Fonte de Enxofre e fósforo

Elementos Minerais : Ca, Fe,...

Vitaminas

H₂O



50

CLASSIFICAÇÃO DO MEIO DE CULTURA

❑ Quanto a consistência:

Meio Líquido



Meio Semi-Sólido



Meio Sólido (Agente Solidificante)



51

CLASSIFICAÇÃO DO MEIO DE CULTURA

❑ Quanto a composição

Sintéticos : quimicamente definidos

Naturais ou Complexos: com composição química não definida, como extratos de vegetais, de animais e de microrganismos.

❑ Quanto a Seletividade

Seletivos: para um determinado microrganismos

Não Seletivo: ampla gama de microrganismos

Diferencial: evidencia propriedade

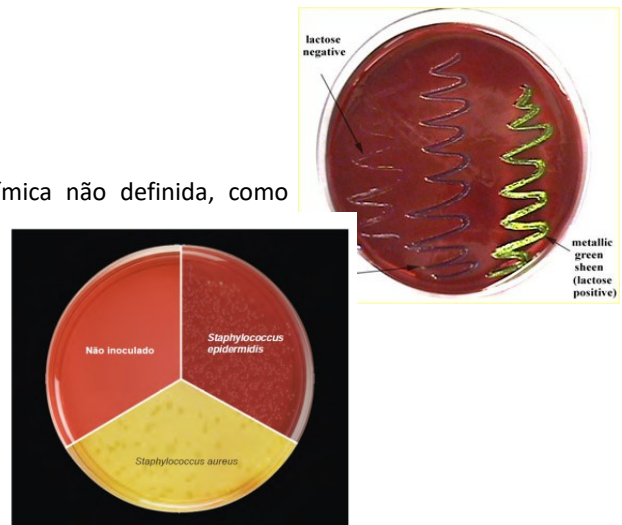
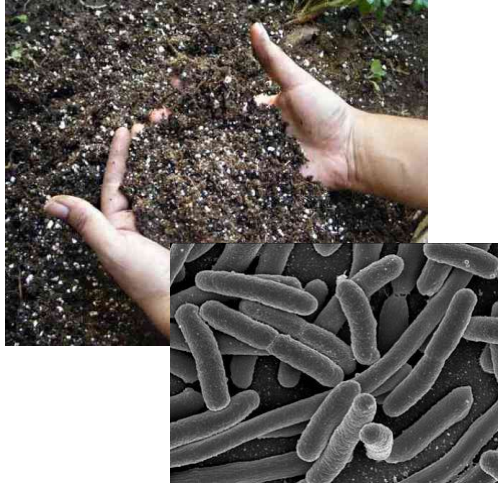


Figura 6.10 Meio diferencial. As colônias de bactérias no meio diferencial têm uma aparência diferente. Esse meio é o ágar hipertônico manitol, e as bactérias nas colônias capazes de fermentar o manitol do meio em ácidos levam a uma mudança na coloração. Na realidade, esse meio também é seletivo por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

52

QUE MICRORGANISMOS PRETENDEMOS ISOLAR?



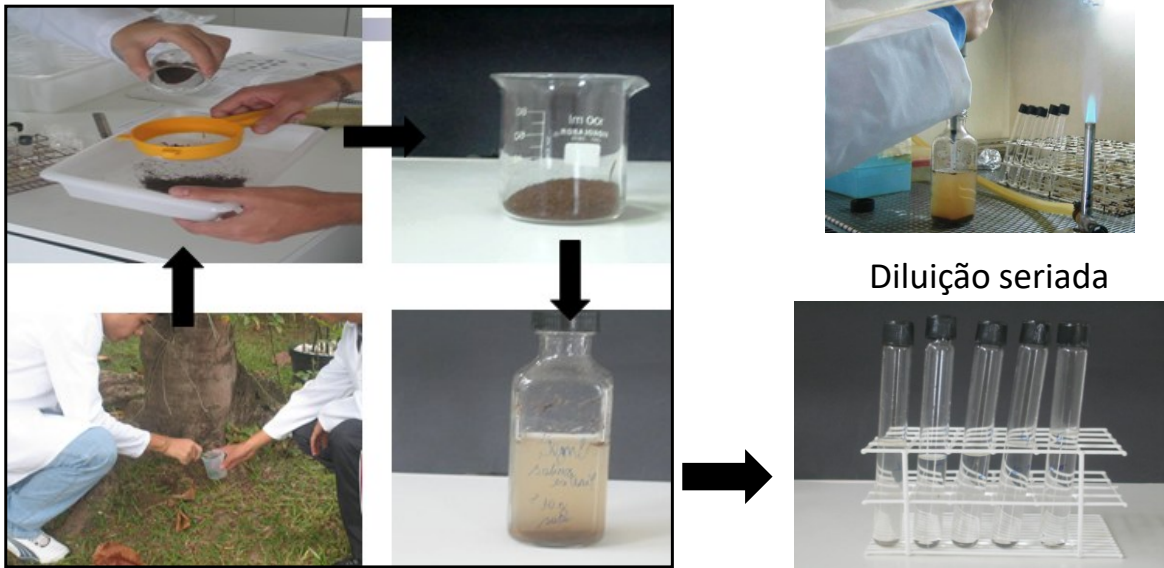
Bactérias



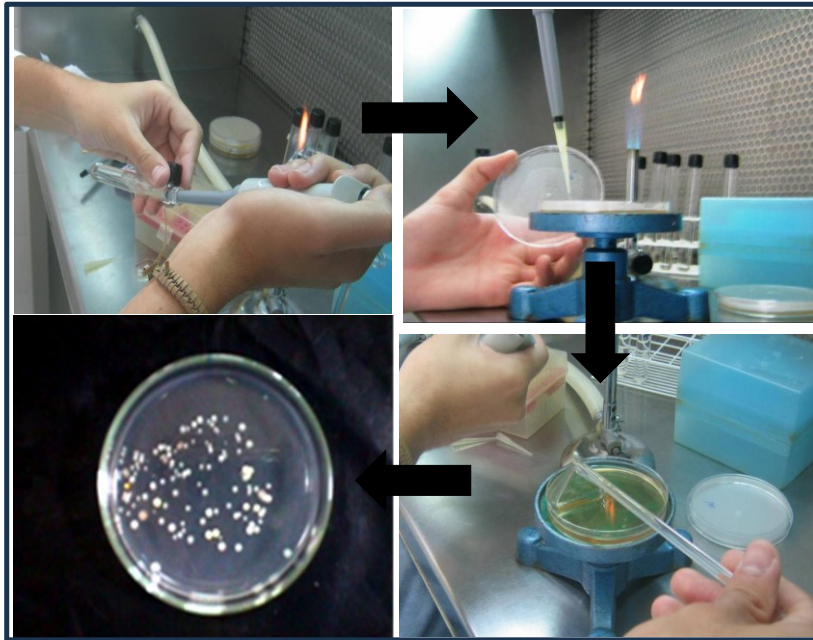
Leveduras

53

COLETA E PREPARO DA AMOSTRA



54



55

MANIPULAÇÃO ASSÉPTICA

❖ Bico de Bunsen

- Ambiente estéril – próximo a chama
- Alças devem ser flambadas antes e depois do uso
- Tubos abertos, devem ser flambados antes e depois do uso



56

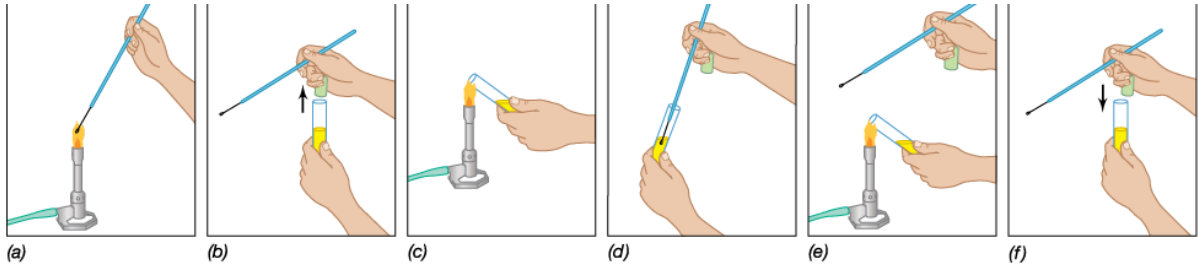


Figura 5.4 Transferência asséptica. (a) A alça é aquecida até a incandescência, sendo rapidamente resfriada no ar. (b) O tubo é destampado. (c) A ponta do tubo é passada pela chama. (d) A amostra é coletada com a alça estéril e transferida a um meio estéril. (e) O tubo é novamente flambado. (f) O tubo é fechado. A alça é novamente aquecida, antes de ser dispensada.

57

MANIPULAÇÃO ASSÉPTICA

2 – Fluxo Laminar

Ar que passa pela amostra é filtrado

Filtro HEPA (High Efficiency Particulate Air)

Retém 99,9% das impurezas do ar, incluindo vírus e bactérias



58

Manipulação asséptica

Cuidados no Uso do Fluxo Laminar



Limpar a bancada de uso

Ligar a luz UV 15 min antes de utilizar

Desligar o UV

Atenção a direção do vento para a correta manipulação!