

Microbiologia: da Teoria a prática

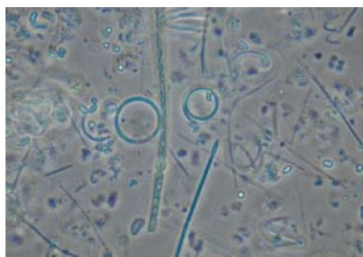
LOT2053

Profa. Tatiane da Franca Silva

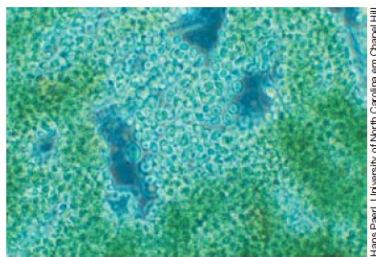
1

ECOLOGIA MICROBIANA

- ☐ Relação entre os microrganismos e seus ambientes bióticos e abióticos
- ☐ Abundância X Diversidade de microrganismos nos habitats

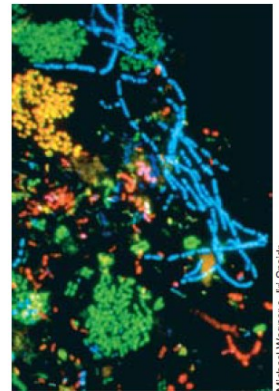


(b)



(c)

Figura 19.1 Diversidade microbiana de espécies: riqueza versus abundância. (a) Coleta de amostras do Lago Taihu, China, após um afloramento da cianobactéria *Microcystis*. (b) Alta riqueza de espécies no Rio St. John, Flórida, ilustrado por microscopia dos microrganismos planctônicos, incluindo cianobactérias, diatomáceas, algas verdes, flagelados e bactérias. (c) Mudança da comunidade do Rio St. John para baixa riqueza mas alta abundância após um afloramento da cianobactéria *Microcystis*.



Michael Wagner e David A. Stahl

Michael Wagner e Jiri Smolár

2

ECOLOGIA MICROBIANA

❑ Ecossistemas



3

CRESCIMENTO MICROBIANO

❑ Laboratório X Ecossistema natural

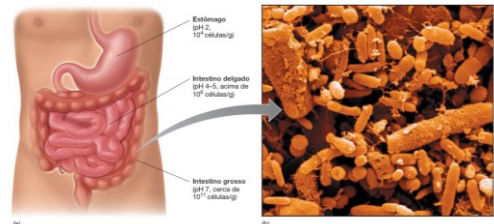
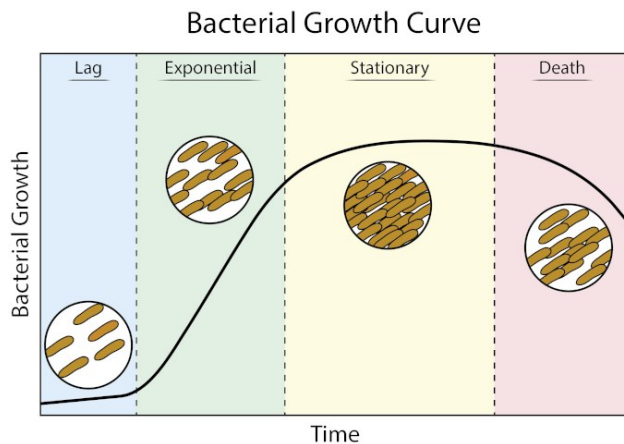


Figura 1.10 O trato gastrointestinal humano. (a) Diagrama do trato GI humano mostrando os principais órgãos. (b) Micrografia eletrônica de varredura de células microbianas no colo humano (intestino grosso). O número de células no colo pode ser maior do que 10^{11} por grama. Assim como o número de células, a **diversidade microbiana** no colo também é bastante elevada.



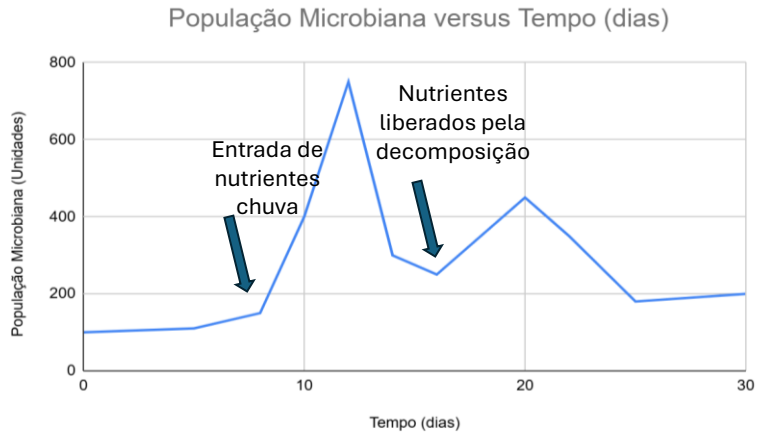
4

CRESCIMENTO MICROBIANO

- Ecossistemas: crescimento ocorre em pulsos, associados à disponibilidade e natureza dos nutrientes



Pseudomonas fluorescens:



5

ECOLOGIA MICROBIANA

- Riqueza e abundância em uma comunidade dependem das condições e da quantidades de nutrientes disponíveis

Tabela 19.1 Principais recursos e condições que determinam o crescimento microbiano na natureza

Recursos

Carbono (orgânico, CO_2)
 Nitrogênio (orgânico, inorgânico)
 Outros macronutrientes (S, P, K, Mg)
 Micronutrientes (Fe, Mn, Co, Cu, Zn, Ni)
 O_2 e outros aceptores de elétrons (NO_3^- , SO_4^{2-} , Fe^{3+})
 Doadores inorgânicos de elétrons (H_2 , H_2S , Fe^{2+} , NH_4^+ , NO_2^-)

Condições

Temperatura: frio → morno → quente
 Potencial de água: seco → úmido → molhado
 pH: 0 → 7 → 14
 O_2 : óxico → micro-óxico → anóxico
 Luz: intensa → suave → escuro
 Condições osmóticas: água doce → água do mar → hipersalinas

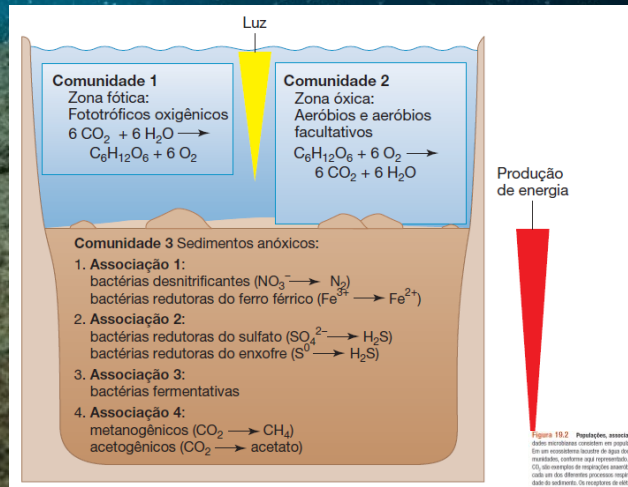


Figura 10.2 Populações, associações e comunidades. Os organismos microbianos vivem em comunidades de células de várias espécies. Em um ecossistema aquático de água doce, aproximadamente metade dos organismos, incluindo as representadas H_2O , CO_2 , HCO_3^- , Fe^{3+} , Fe^{2+} , CH_4 , são capazes de respiração aeróbica. A maioria de água doce, para cada um dos diferentes processos respiratórios, pode obter uma grande quantidade de energia. Os organismos de diferentes tipos também podem obter energia através da oxidação de compostos orgânicos presentes na superfície, os microrganismos também ocorrem profundamente nos sedimentos.

6

ECOSSISTEMAS TERRESTRES : CICLO BIOGEOQUÍMICOS

- ❑ Transformações de um elemento catalisado por agentes biológicos e químicos
- ❑ Reações e Oxi-Redução
- ❑ Algumas reações exclusivas de microrganismos
- ❑ Geram importantes nutrientes para outros organismos.

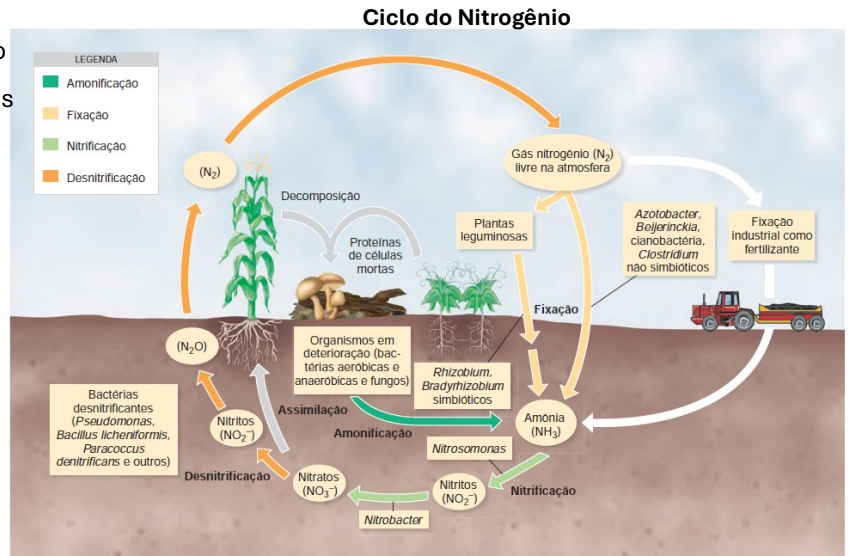
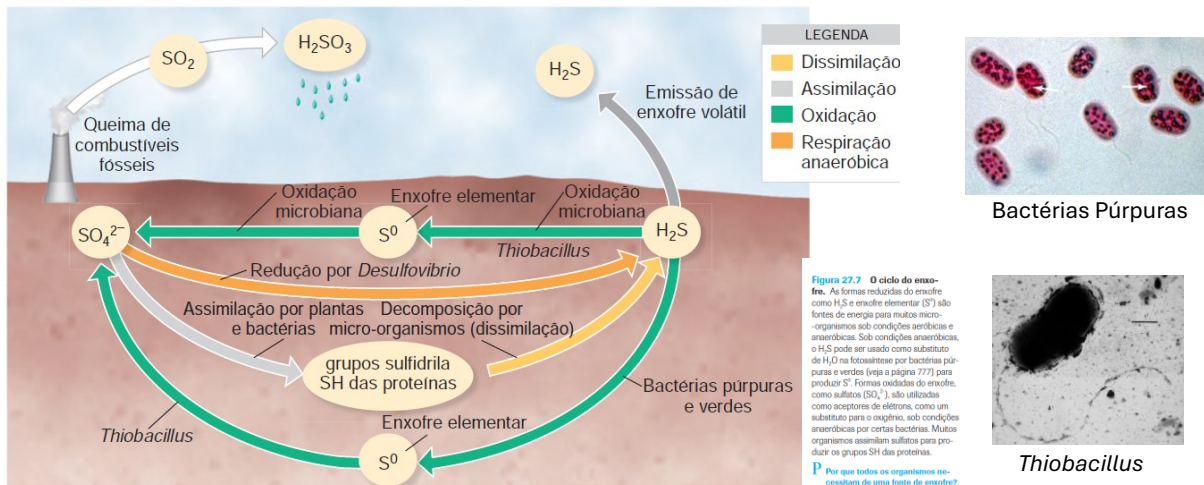


Figura 27.4 O ciclo do nitrogênio. Em geral, o nitrogênio na atmosfera passa por fixação.

7

ECOSSISTEMAS: CICLO BIOGEOQUÍMICOS

Ciclo do enxofre



9

ECOLOGIA MICROBIANA

- ❑ **Simbiose:** relação entre dois organismos na qual pelo menos um é dependente do outro

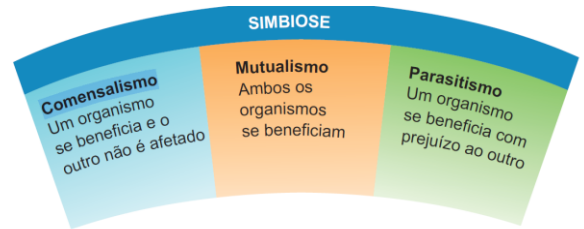


Figura 14.2 Simbiose.

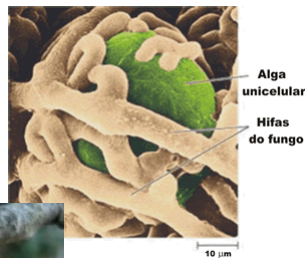


Figura 14.1 Representantes da microbiota normal em diferentes regiões do corpo.

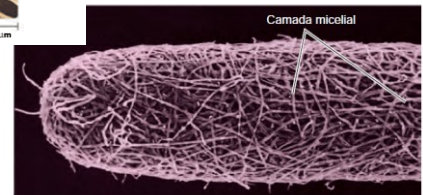
10

SIMBIOSE: MUTUALISMO

- ❑ Ex: Micorrizas (associação de fungos e plantas);
- ❑ Líquen (associação de fungos e cianobactérias);
- ❑ Bactérias fixadoras de nitrogênio;



(a) A infecção por micorriza influencia fortemente o crescimento de muitas plantas. O crescimento relativo de duas mudas de pinho é mostrado: a muda da esquerda foi inoculada com micorrizas; a muda da direita não.

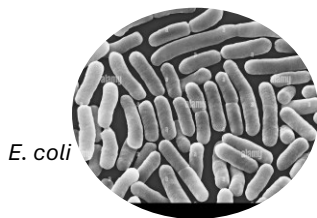
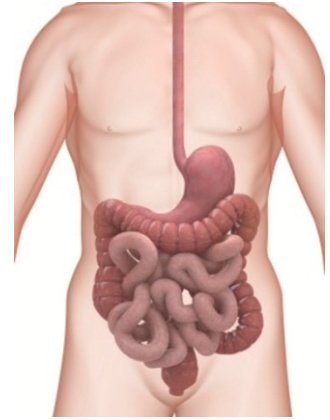


(b) Ectomicorriza. A camada micelial de um fungo ectomicorrízico típico recobre a raiz de um eucalipto.

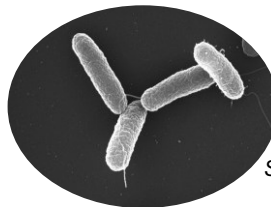
11

SIMBIOSE: MICROBIOTA NO HOSPEDEIRO

- ❑ Patologias ligadas ao Antagonismo competitivo
- ❑ Ex: *E. coli* produz bacteriocina que inibem o crescimento de outras bactérias como as bactérias patogênicas *Salmonella* e *Shigella*.



E. coli



Salmonella

12

BIOINDICADOR MICROBIANO

- ❑ Microrganismos usados para atestar a qualidade do solo ou da água

Critérios

- ❑ Comportamento similar ao patógeno ou contaminante
- ❑ Estar ausente ou em poucas quantidades em regiões não contaminadas
- ❑ Ser resistentes ao ambiente
- ❑ técnicas simples e precisas para sua detecção contagem do microrganismo.



Liquen



Solo contaminado com cobre

13

COLIFORMES

GÊNEROS: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*

CARACTERÍSTICAS MAIS IMPORTANTES:

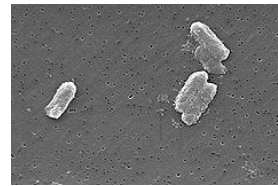
- ❖ Podem habitar o intestino normal do homem e outros animais
- ❖ Encontradas também em ambientes como solo, água e vegetais



Enterobacter

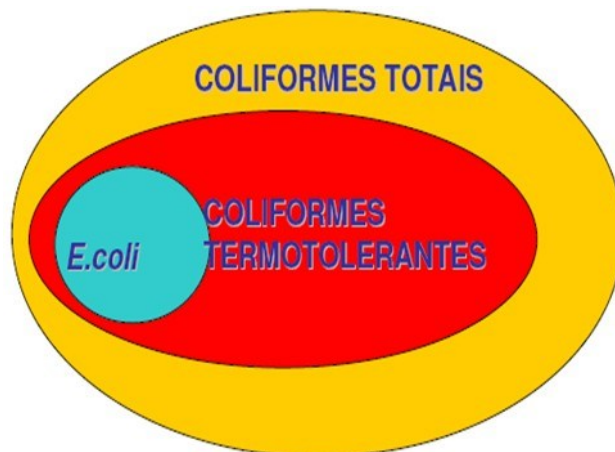


Klebsiella



Citrobacter

14

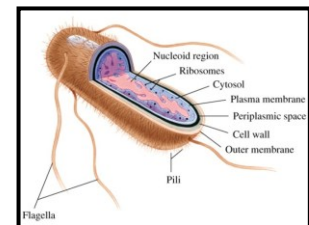
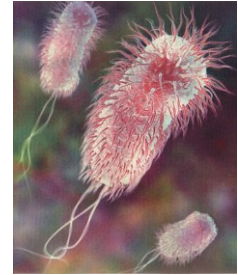


16

COLIFORME FECAIS OU TERMOTOLERANTE

GÊNERO *Escherichia*

- ❖ Constante no intestino humano e no de animais de sangue quente
- ❖ Abundante nas fezes vive bastante tempo na água.
- ❖ Dentre os coliformes presentes nas fezes, a grande maioria é *Escherichia coli* (95%)



17

BIOINDICADOR MICROBIANO

- ❑ *E. coli* indicador de contaminação fecal
- ❑ Métodos de detecção: baseado na Fermentação de Lactose



18

ANÁLISE MICROBIANA DA ÁGUA

❖ **COLIFORMES TOTAIS** – a contagem de coliformes totais é utilizada para avaliar a qualidade microbiológica da água na saída do tratamento.

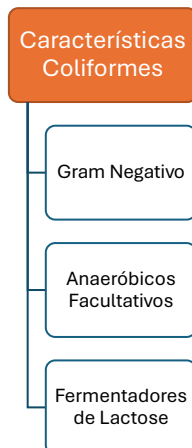
❖ **COLIFORMES FECAIS** - o índice de coliformes fecais é indicador de contaminação fecal, constituída principalmente de *Escherichia coli* –que habita o trato intestinal do homem e de outros animais

19

MÉTODO ANALÍTICO

❖ **CONTAGEM DE COLIFORMES – PODE SER FEITA EM:**

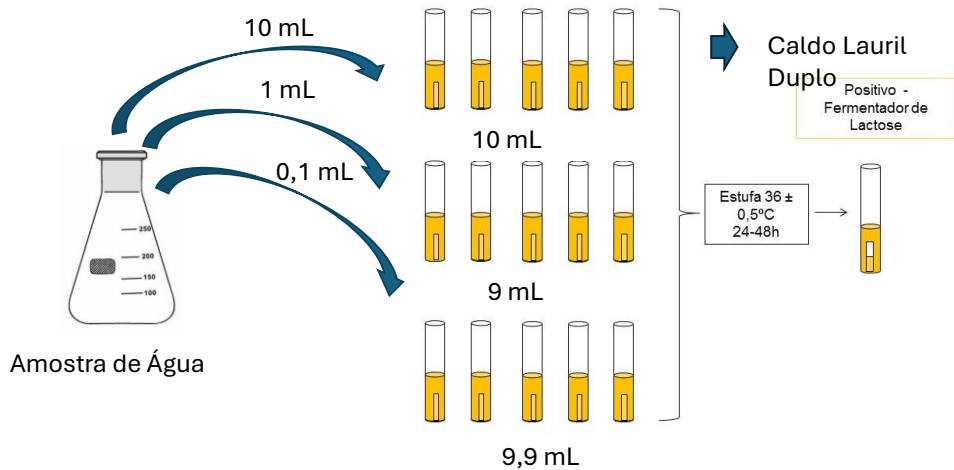
- Meios de cultura sólidos.
- Meios de cultura líquidos (**Técnica do Número Mais Provável – NMP**)



20

TESTE DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL

1- Teste presuntivo : Meio Lauril Sulfato



21

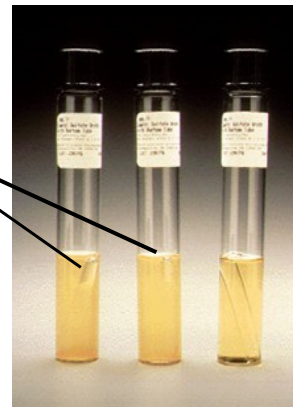
TESTE DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL

1 - TESTE PRESUNTIVO – princípio detectar a presença de microrganismos fermentadores da lactose, através da produção de CO₂ (24h a 48h)

❖ Utiliza Meio Lauril Sulfato tubos de Durham

Composição do caldo lauryl triptose	
Triptose	20,0g
Lactose	5,0g
K ₂ HPO ₄	2,7g
K ₂ HPO ₄	2,7g
Cloreto de sódio	5,0g
Sulfato de sódio lauryl	0,1g
Água destilada	1.000mL
Corrigir o pH para 7,0	

Formação de Gás



22

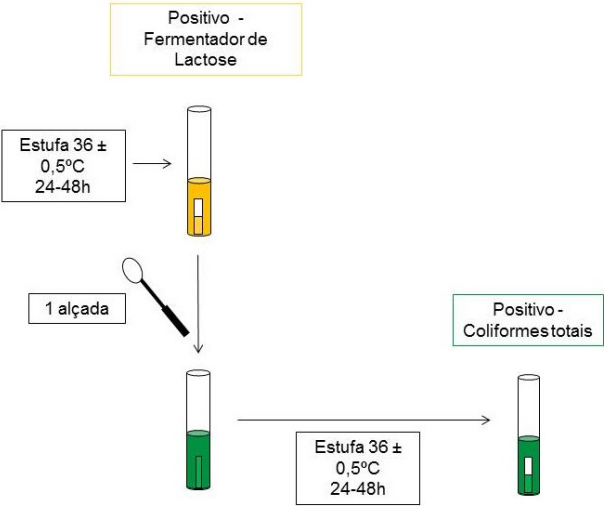
Tabela 1: Relação entre o número tubos positivos na prova e o Número Mais Provável (NMP) de células bacterianas por 100mL

Tubos Positivos por:			NMP para 100 mL
10 mL	1 mL	0,1mL	3 tubos
0	0	0	< 3
0	0	1	3
0	1	0	3
0	2	0	6
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
2	3	0	30
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	>2400

23

TESTE DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL

2- Prova Confirmativa para Coliformes Totais: Meio Verde Brilhante



24

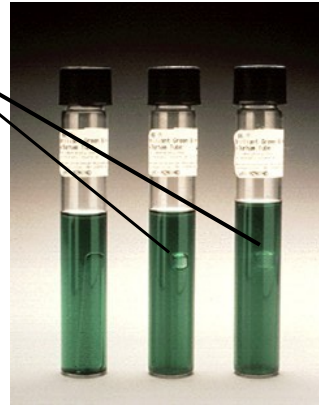
TESTE DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL

2- TESTE CONFIRMATIVA PARA COLIFORMES TOTAIS: princípio detectar o turvamento e produção de CO_2 por bactérias **Gram negativas**

❖ Utiliza Caldo verde Brilhante Lactosado e tubos de Durham

Composição do caldo lactosado bile verde brilhante	
Peptona	10,0g
Lactose	10,0g
Oxgall	20,0g
Verde brilhante	13,3g
Água destilada	1.000mL
Corrigir o pH para 7,2	

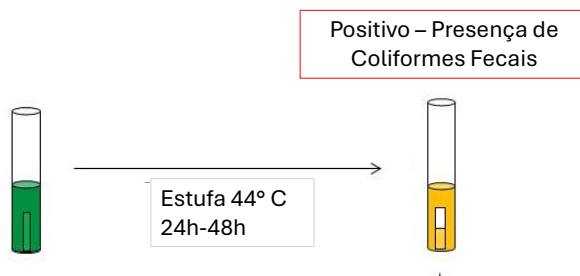
Formação de Gás



25

TESTE DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL

3- Prova Confirmativa para Coliformes Termotolerante: Caldo EC



26

TESTE DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL

3- TESTE CONFIRMATIVO PARA COLIFORMES TERMOTOLERANTES: princípio o turvamento e a produção de CO_2 por bactérias coliformes termotolerantes a $44,5^\circ\text{C}$.

❖ Utiliza meio de cultura seletivo “Caldo EC” e tubos de Durham

Composição do caldo EC	
Triptose	20,0g
Lactose	5,0g
K_2HPO_4	4,0g
K_4HPO_4	1,5g
Cloreto de sódio	5,0g
Mistura de sais biliares	1,5g
Água destilada	1.000mL
Corrigir o pH para 6,9	



27

BIOINDICADOR MICROBIANO

❑ Métodos de detecção e quantificação :
Teste ONPG e MUG

❑ coliformes produzem a enzima β -galactosidase no meio ONPG (β -D-galactopiranosídeo) ➡ Amarelo

❑ *E. coli* produz a enzima β -glicoronidase, no meio no MUG (4-metilumbeliferil- β -D-glucuronídeo)
➡ composto fluorescente azulado



Figura 27.14 O teste ONPG e MUG para coliformes. A cor amarela (ONPG-positivo) indica a presença de coliformes. A fluorescência azul (MUG-positivo) indica a presença do coliforme fecal *E. coli*. O meio sem coloração indica uma amostra não contaminada.

29

VÍRUS



30

VÍRUS

☐ parasitas intracelulares obrigatórios

Tabela 13.1	Comparação entre vírus e bactérias		
	Bactérias		Vírus
	Bactérias típicas	Riquétsias/ clamídias	
Parasita intracelular	Não	Sim	Sim
Membrana plasmática	Sim	Sim	Não
Fissão binária	Sim	Sim	Não
Passagem através de filtros bacteriológicos	Não	Não/Sim	Sim
Possui ambos, DNA e RNA	Sim	Sim	Não
Metabolismo de geração de ATP	Sim	Sim/Não	Não
Ribossomos	Sim	Sim	Não
Sensíveis a antibióticos	Sim	Sim	Não
Sensíveis ao interferon	Não	Não	Sim

31

VÍRUS

Histórico

Louis Pasteur (1822 – 1895)

A raiva era causada por coisas menores do que bactérias

1884 – Louis Pasteur

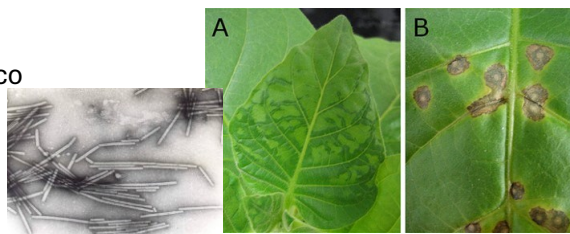
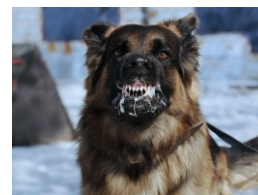
Desenvolveu a primeira vacina contra a raiva

1892 – Dimitri Ivanowski

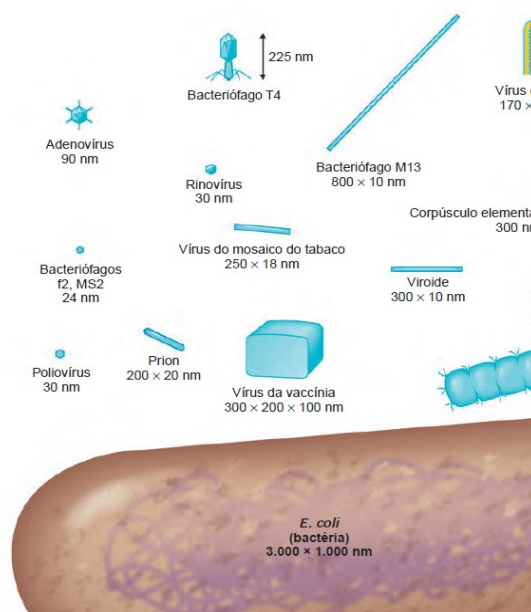
Identificou o agente causador do Mosaico do Tabaco usando filtro de porcelana

1939 – Helmut Ruska

Primeiras imagens reais de um vírus (TMV) por microscopia eletrônica



32



33

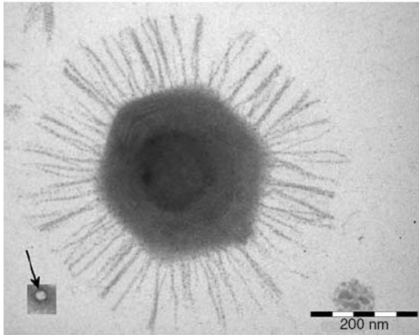
VÍRUS

Figura 13.1 Tamanho dos vírus. Os tamanhos de vírus (em azul esverdeado) e bactérias (em marrom) são comparados com um eritrócito humano, representado à direita das escalas. As dimensões estão em nanômetros (nm) e representam diâmetro ou comprimento por largura.

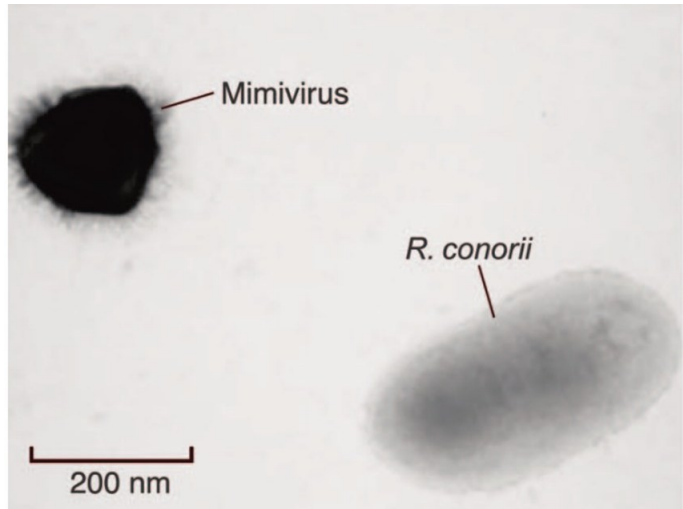
CURIOSIDADES



Hospedeiro de Parvovírus



Parvovírus e Mimivirus

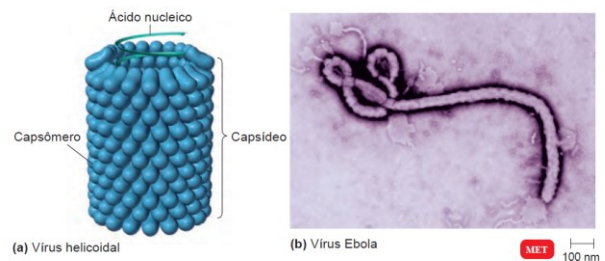
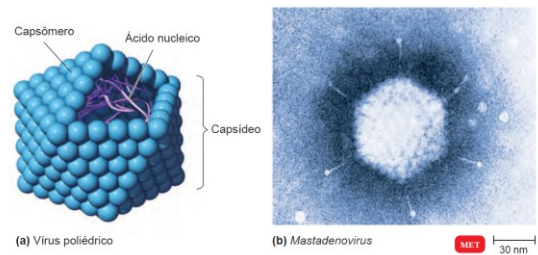
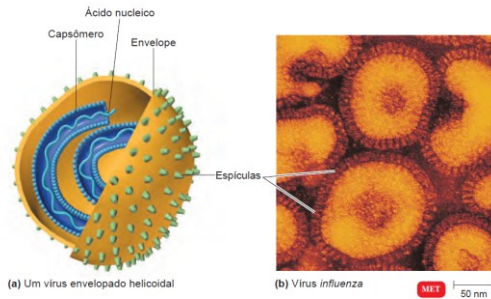


Mimivirus e seu hospedeiro Rickettsia conorii

34

VÍRUS: ESTRUTURA

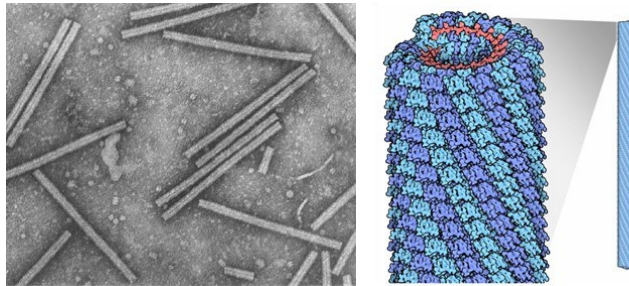
- ☐ Ácido Nucleico
- ☐ Capsídeo: por subunidades proteicas chamadas de capsômeros
- ☐ Alguns são envelopados



35

Capsídeo Helicoidal – forma de bastonete

Vírus do mosaico do tabaco

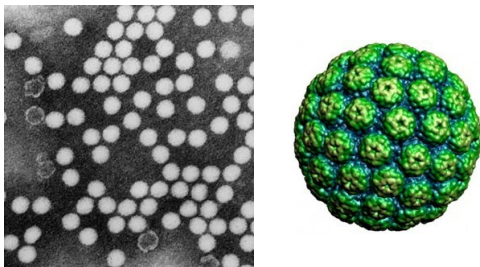


36

VÍRUS: ESTRUTURA

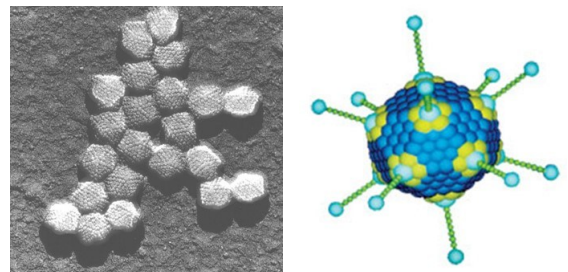
Capsídeo Icosaédrico – 20 faces e 12 vértices

Vírus da Poliomielite



Poliovirus tem 32 capsômeros

Adenovírus



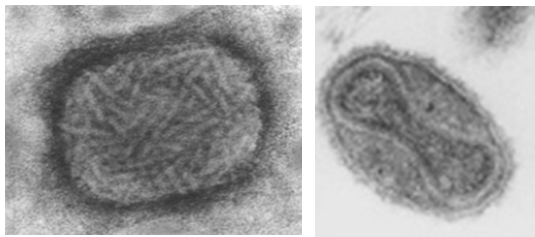
Adenovirus tem 242 capsômeros

37

VÍRUS: ESTRUTURA

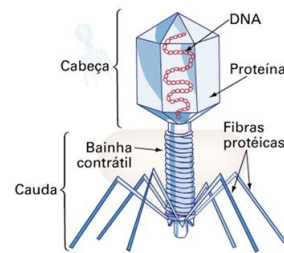
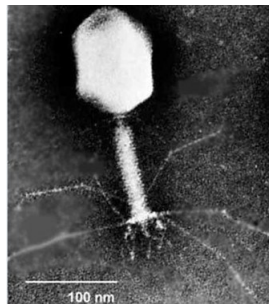
Complexos – Apresentam morfologia distinta

Poxvírus



Densa camada de lipoproteínas e fibras

Bacteriófago



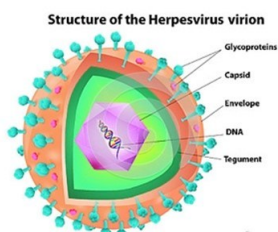
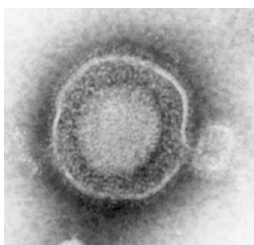
Capsídeo poliédrico, cauda helicoidal e fibras

38

VÍRUS: ESTRUTURA

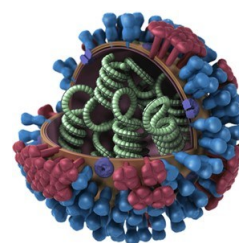
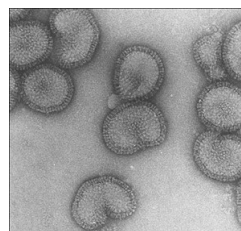
Envelopado – Geralmente esféricos

Vírus da Herpes Simples



Vírus poliédrico envelopado

Vírus da Influenza



Vírus helicoidal envelopado

39

VÍRUS: ÁCIDOS NUCLEICOS

□ Genomas de RNA ou DNA (linear, segmentado, ou circular)

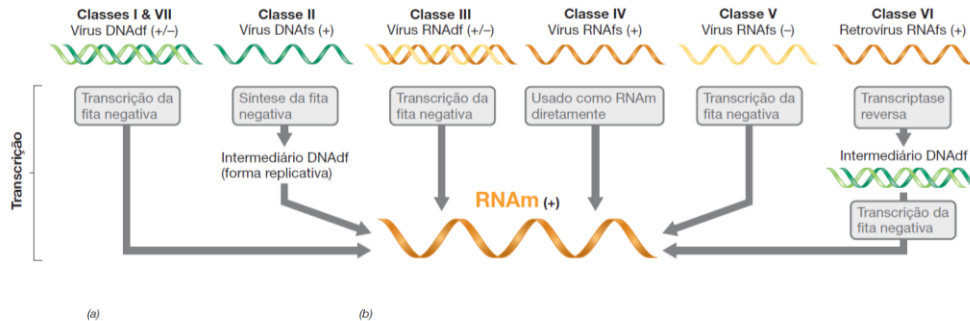
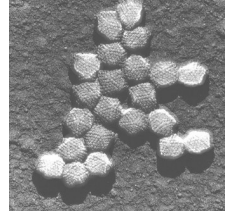
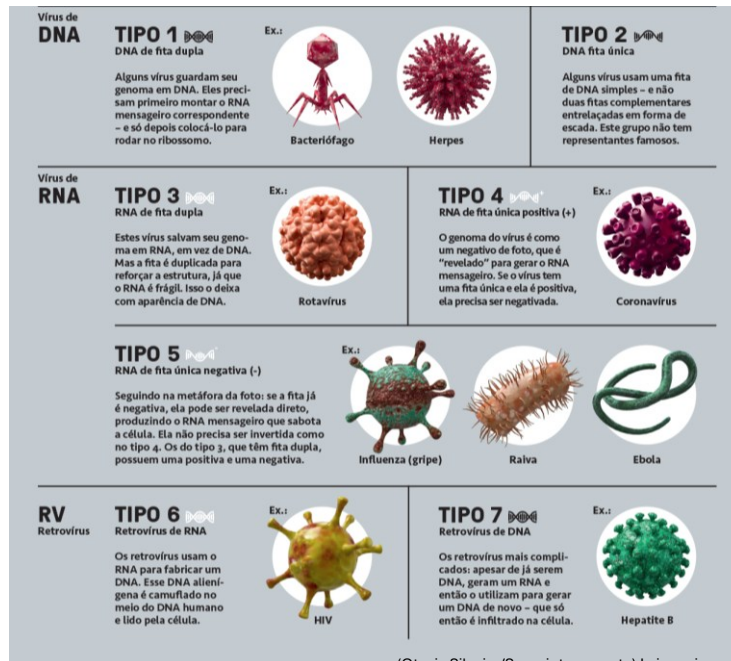


Figura 9.2 A classificação de Baltimore dos genomas virais. Sete classes de genomas virais são conhecidas. Os genomas podem ser tanto (a) DNA quanto (b) RNA, e tanto de fita simples (fs) ou dupla-fita (df). A via que

cada genoma viral toma para formar seus RNAm e a estratégia que cada um usa para sua replicação são mostradas.

40



(Otavio Silveira/Superinteressante) Leia mais em:

<https://super.abril.com.br/especiais/virus-vida-e-obra-do-mais-intrigante-dos-seres/>

41

COMPARAÇÃO DO TAMANHO DOS GENOMAS

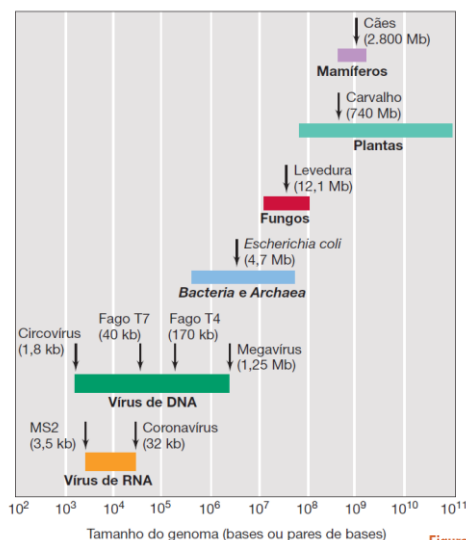
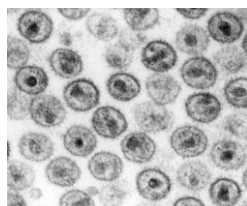


Figura 9.1 Genômica comparativa. Uma comparação entre os genomas virais e aqueles dos maiores grupos de organismos vivos.

Número de genes

Vírus: Número pequeno de genes



9 genes



HIV



~ 80 genes



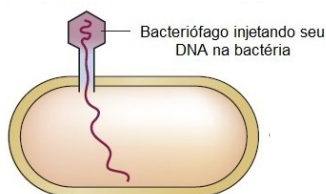
Vírus da Herpes

42

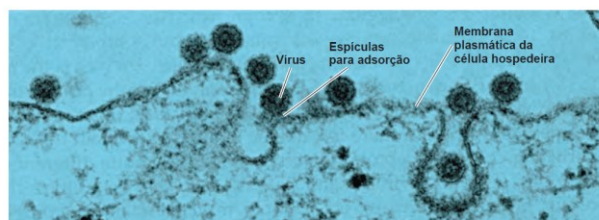
REPLICAÇÃO VIRAL

- ☐ **Adsorção** : e ligam a sítios receptores na superfície da célula hospedeira.
- ☐ **Penetração**: Pinocitose ou fusão
- ☐ **Desnudamento** : liberação do Ácido nucleico

Bacteriófagos

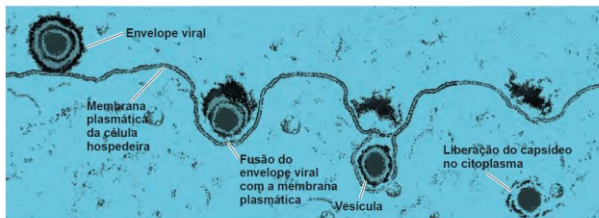


Vírus animais



(a) Penetração de togavírus por pinocitose

140 nm



(b) Penetração de herpesvírus por fusão

400 nm

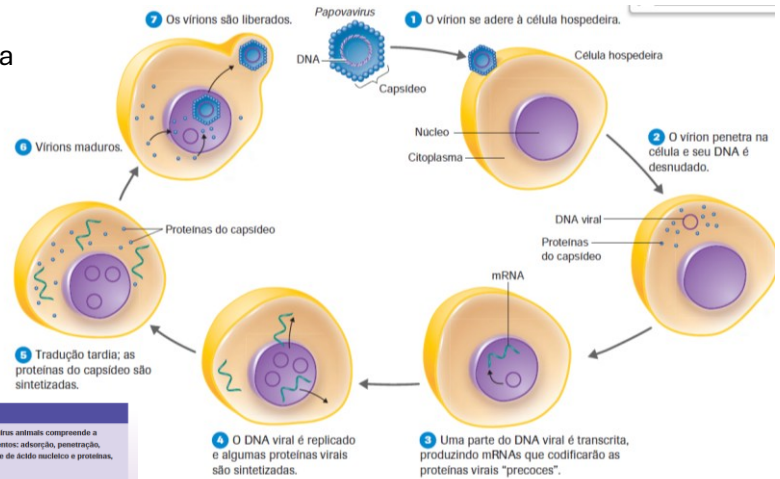
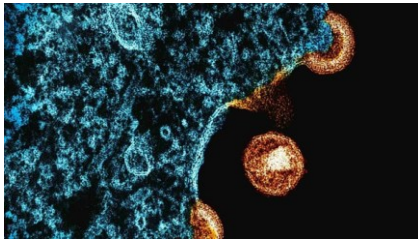
43

REPLICAÇÃO VIRAL

❑ Biossíntese de ácidos nucleicos e proteínas

❑ Maturação: Montagem das partículas virais

❑ Liberação: brotamento ou ruptura



44

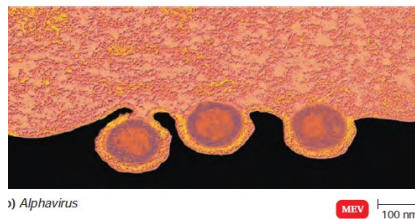
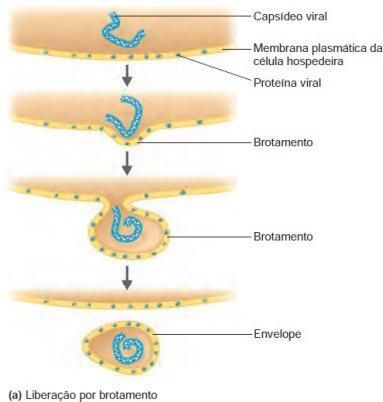
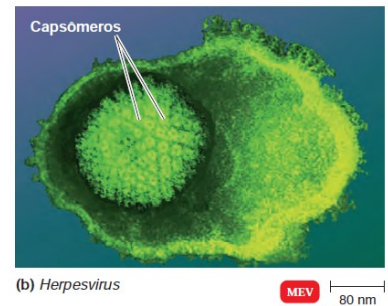


Figura 13.20 Brotamento de um vírus envelopado. (a) Ilustração esquemática do processo de brotamento. (b) Um vírus de anfíbios brotando as células hospedeiras. O CDC relatou que esse vírus tem sido responsável pela mortalidade mundial em massa de anfíbios.



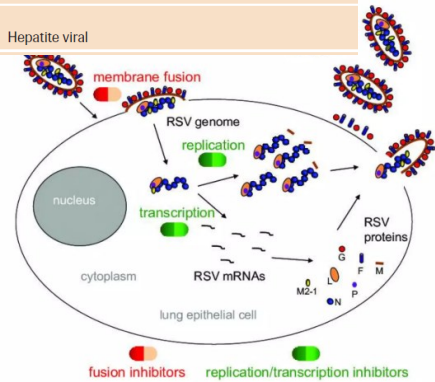
Brotamento: vírus envelopado

45

DROGA ANTIVIRAL

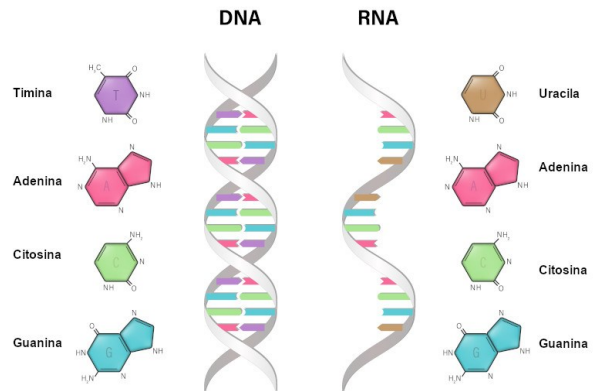
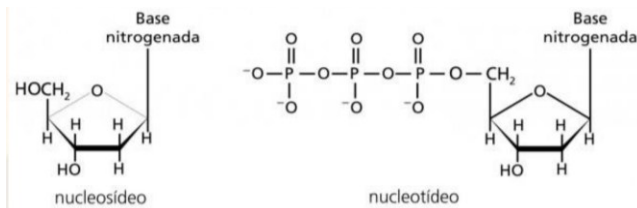
DROGAS ANTIVIRAIS

Análogos de nucleosídeos e nucleotídeos		
Aciclovir, ganciclovir, ribavirina, lamivudina	Inibição da síntese de DNA e RNA	Usados principalmente contra herpesvírus
Cidofovir	Inibição da síntese de DNA e RNA	Infecções por citomegalovírus; possivelmente eficaz contra varíola
Adefovir dipivoxil (Hepsera)	Inibidor competitivo da transcriptase reversa do HBV	No caso de resistência à lamivudina
Adsorção e desnudamento		
Zanamivir, oseltamivir	Inibição da neuraminidase do vírus Influenza	Tratamento de Influenza
Amantadina, zimantadina	Inibição do desnudamento	Tratamento de Influenza
Interferons		
Interferon- α	Inibição da infecção de novas células pelo vírus	Hepatite viral



46

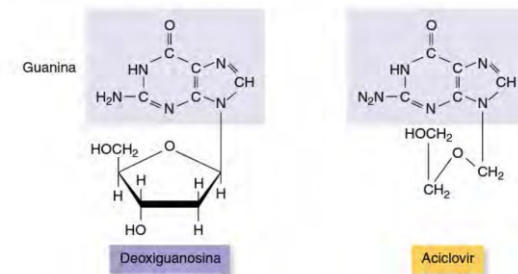
ANÁLOGO DE NUCLEOSÍDEOS



47

ANÁLOGO DE NUCLEOSÍDEOS

- ❑ Acelera a taxa de mutação
- ❑ vírus replica mais rápido → maior incorporação
- ❑ células hospedeiro replicam mais devagar → menor efeitos tóxicos



(a) O aciclovir é estruturalmente semelhante ao nucleosídeo deoxiguanosina.

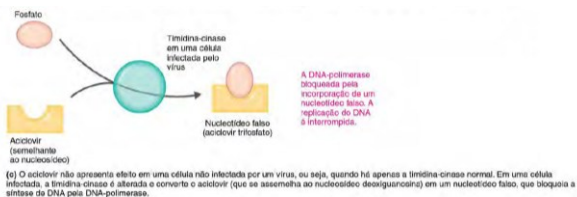
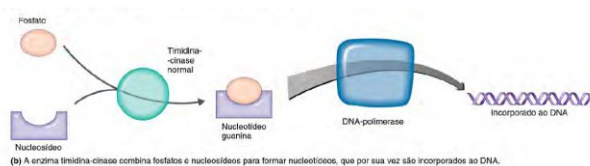


Figure 20.16 Estrutura e função da droga antiviral aciclovir.