Centro Universitário São Miguel



Microbiologia & Imunologia

Crescimento e Taxonomia Bacteriano e Controle dos Microrganismos

Prof. Me. Yuri Albuquerque





Considerações Gerais

O crescimento em bactérias é frequentemente considerado em dois níveis, a saber:

Individual; e

Populacional.

O crescimento é um somatório dos processos metabólicos progressivos, que normalmente conduz à divisão (reprodução) com concomitante produção de duas células-filha a partir de uma.

A grande maioria, de fato, divide-se dando origem a duas células-filha iguais (divisão binária), embora algumas espécies formem brotos que crescem até atingir o tamanho da célula-mãe e, então, destacam-se.

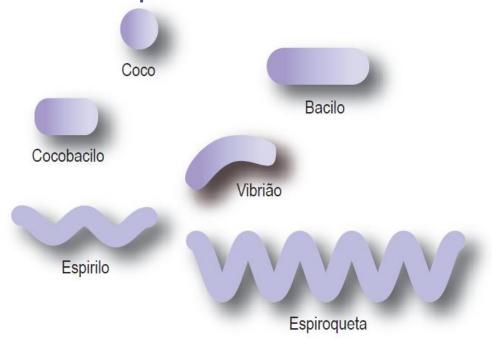




Considerações Gerais

Assim, as bactérias, além de esféricas, apresentam-se também sob as formas cilíndrica e espiralada.

Principais formas das bactérias

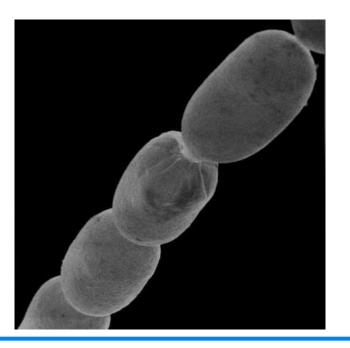






Métodos de medida

O desenvolvimento de uma cultura bacteriana pode ser medido tanto por um aumento de quantidade de **protoplasma**, quanto pelo número de organismos.







Métodos de medida

Nenhum método simples, em uso, permite uma estimativa simultânea de ambos:



Múmero.

Para isso deve-se determinar a relação entre os dois métodos, para determinadas linhagens de bactéria, onde, as duas quantidades podem ser estimadas por um único método, desde que as condições da cultura sejam absolutamente as mesmas.

Escala Nefelométrica de McFarland





Métodos de medida

Métodos diretos:

- a. Centrifugação
- b. Peso seco

Métodos indiretos:

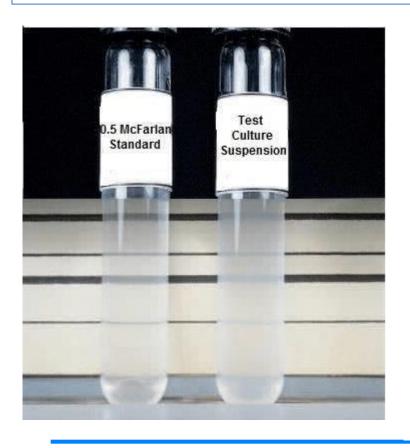
- a. Nitrogênio pelo método de micro-Kjeldahl
- b. Estimativas colorimétricas ou espectrofotométricas de constituintes do protoplasma (258 nm)
- c. Medida do consumo de um metabólito ou acúmulo de um produto do metabolismo
- d. Turbidimetria
- e. Consumo de um composto pela massa bacteriana





Métodos de medida

Turbidimetria – Escala de McFarland em comparativo a uma suspensão bacteriana



ESCALA MCFARLAND

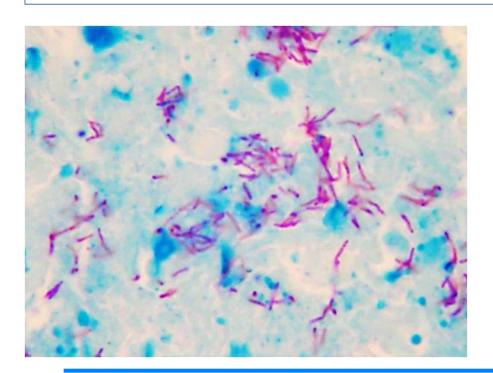
Nº	BaCl ₂	H ₂ SO ₄	<u>Vf</u>	<u>Nº</u> Células
	0,048M ml	0,36M ml	ml	
0,5	0,05	9,95	10	1,5 · 108
1	0,1	9,9	10	3 · 10 ⁸
2	0,2	9,8	10	6 · 108
3	0,3	9,7	10	9 · 108
4	0,4	9,6	10	12 · 108
5	0,5	9,5	10	15 · 108
6	0,6	9,4	10	18 · 10 ⁸
7	0,7	9,3	10	21 · 108
8	0,8	9,2	10	24 · 108
9	0,9	9,1	10	27 · 108
10	1	9	10	30 · 10 ⁸

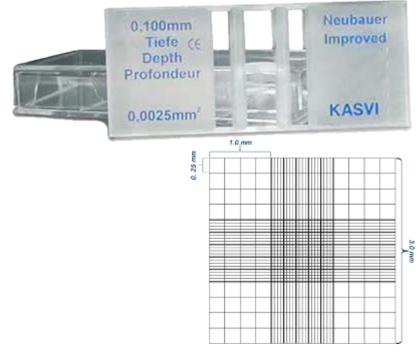




Métodos diretos de contagem de partículas

- Contadores de partículas
- Câmaras de contagem
- Esfregaços corados











Métodos indiretos de contagem de partículas

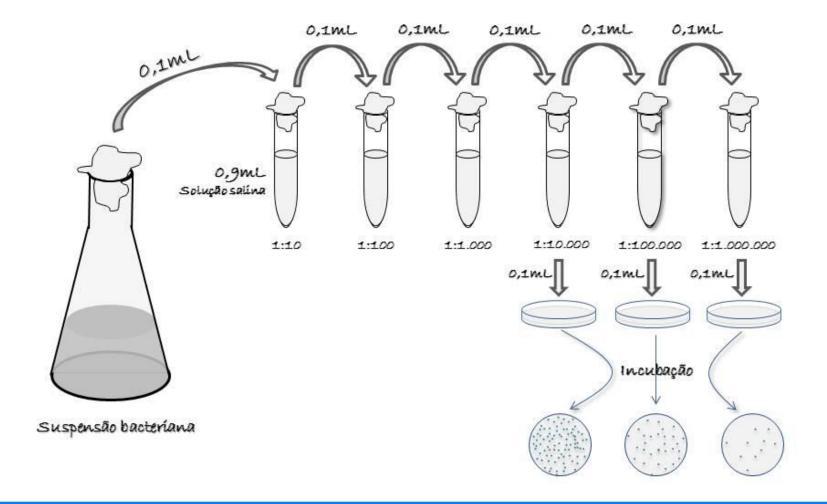
Estão baseados na capacidade de multiplicação dos micro-organismos, quando transferidos para um meio de cultura novo. Como resultado, estes métodos contam apenas células vivas e nem sempre todas elas.

Diluição seriada ou do número mais provável

Plaqueamento em meio sólido

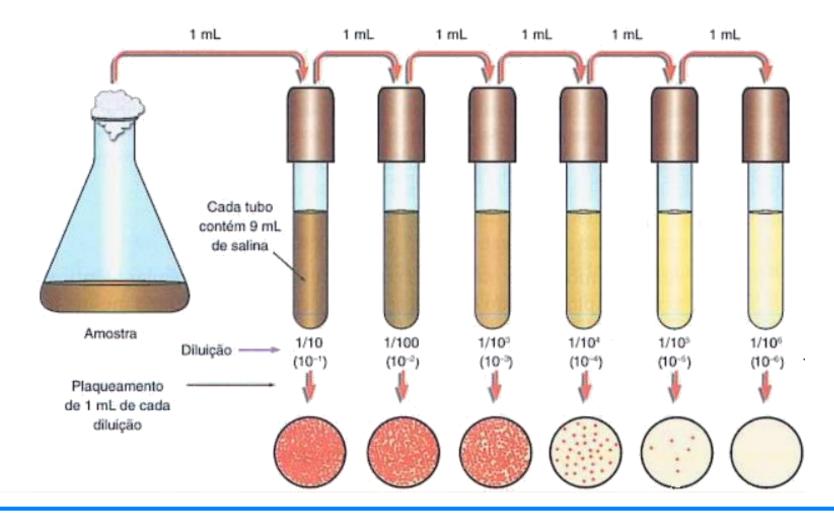


Métodos indiretos de contagem de partículas





Métodos indiretos de contagem de partículas







Curva de crescimento

Embora as bactérias desenvolvam-se bem em meios de cultura sólidos, os estudos de crescimento são feitos essencialmente em meios líquidos e as considerações que seguem são válidas para estas condições.

Quando uma determinada bactéria é semeada num meio líquido de composição apropriada e incubada em temperatura adequada, o seu crescimento segue uma curva definida e característica.





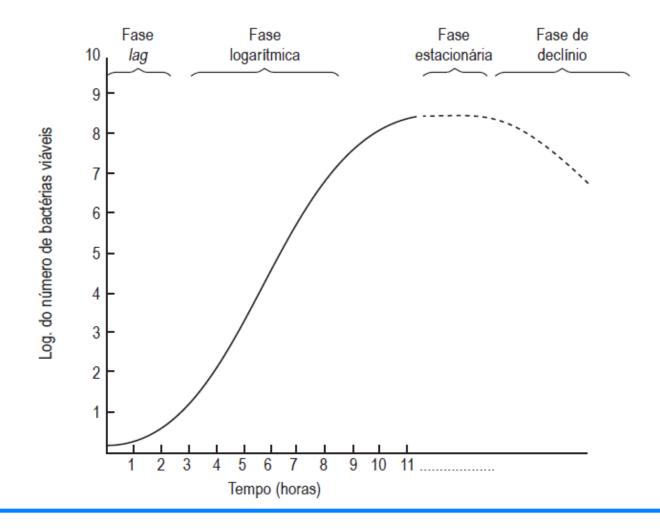
Curva de crescimento

A curva de crescimento pode ser arbitrariamente dividida em quatro fases:

- 1. Fase de *lag*, durante a qual praticamente não ocorre divisão celular, porém há aumento de massa;
- 2. Fase *logarítmica*, na qual ocorre divisão regular numa velocidade máxima e constante;
- 3. Fase *estacionária*, durante a qual a velocidade de multiplicação diminui gradualmente, até que se anule;
- 4. Fase de *declínio*, em que os microrganismos gradualmente diminuem em número até que a cultura se torne estéril, ou seja, todos os microrganismos morrem.



Curva de crescimento bacteriano







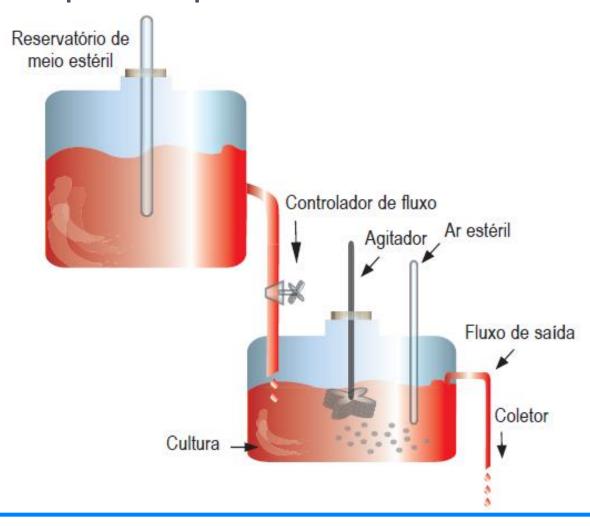
Crescimento continuo

Embora muitos estudos possam ser feitos com este tipo de crescimento, seria ideal estudar o crescimento bacteriano de maneira tal que todos os parâmetros ficassem constantes.

Isto se tornou possível com o processo da cultura contínua, que consiste em um sistema de células em crescimento no qual os nutrientes são adicionados continuamente e o volume do frasco permanece constante pela retirada simultânea de meio já utilizado. Um sistema de quimiostato é utilizado para tal fim.



Crescimento continuo – Esquema de quimiostato







Crescimento continuo

Nesta condição de estado estacionário, os valores médios de todas as características, calculados por bactéria, como tamanho, composição química e velocidade de crescimento, permanecem constantes em qualquer intervalo de tempo.

Como é de se esperar nestas condições de regime estacionário, são constantes também a composição do meio de cultura, a concentração de metabólitos e a massa de células.





Taxonomia bacteriano

A enorme biodiversidade microbiológica existente na natureza levou a que, desde cedo, os cientistas procurassem um modo de organizar, ordenar e nomear esta ampla variedade de organismos vivos.

A taxonomia classifica os organismos em grupos com características similares. Esta classificação segue diferentes níveis hierárquicos: grupos pequenos que compartilham propriedades comuns que, por sua vez, fazem parte de grupos maiores. As categorias frequentemente utilizadas são (em ordem ascendente): espécie, gênero, família, ordem, classe, filo e reino.





Taxonomia bacteriano

A nomenclatura de bactérias é regulamentada pelo "Código internacional para a nomenclatura de procariontes" e compreendem as regras, os princípios e as recomendações para a descrição de uma nova unidade de classificação (ou taxon, no plural taxa), ou seja, espécie, gênero ou família.

Conforme essas regras, o nome de uma espécie bacteriana baseia-se no sistema binomial desenvolvido pelo taxonomista sueco Carl von Linné para plantas e animais.

Nesse sistema o nome de uma espécie bacteriana é sempre dado como uma combinação em latim constituída de duas partes, o nome do gênero e no nome específico que denota a espécie.





Taxonomia bacteriano

Por exemplo, uma das bactérias que habitam o intestino de mamíferos é designada de *Escherichia coli* (nome de gênero e seguido do nome da espécie). Apenas a primeira letra do nome do gênero é escrita com a letra maiúscula e o nome completo deve ficar em itálico ou sublinhado.

Na bactéria *Staphylococcus aureus* o nome de gênero é derivado das palavras de origem grega *staphyle* (que significa cacho de uva) e *coccus* (que significa semente). No exemplo anterior a terminação "us" é oriunda do latim e corresponde a uma das terminações utilizadas para substantivos (*Staphylococcus*) e adjetivos (*aureus*) masculinos.





Controle dos microrganismos

O controle dos microrganismos é um tema abrangente e de inúmeras aplicações práticas envolvendo toda a microbiologia e não só aquela aplicada à medicina.





Terminologia Relacionada ao Controle do Crescimento Microbiano			
Termo	Definições e Comentários		
Esterilização	Processo de destruição, inativação definitiva e/ou remoção de todas as formas de vida de um objeto ou material. Inclui os endósporos que são as formas mais resistentes de vida. É um processo absoluto, não havendo graus de esterilização.		
Desinfecção	Destruição (morte) de micro-organismos capazes de transmitir infecção, patógenos, portanto. São usadas geralmente substâncias químicas que são aplicadas em objetos ou materiais. Reduzem ou inibem o crescimento, mas não esterilizam necessariamente.		
Antissepsia	Desinfecção química da pele, mucosas e tecidos vivos. Antissepsia é um caso particular da desinfecção.		
Germicida	Agente químico genérico que mata germes, micróbios: bactericida — mata bactérias; virucida — mata vírus; fungicida — mata fungos; esporocida — mata esporos etc.		
Bacteriostase	A condição na qual o crescimento bacteriano está inibido, mas a bactéria não está morta. Se o agente (substância ou condição) for retirado, o crescimento pode recomeçar. Substâncias químicas, quimioterápicos, podem ser bacteriostáticos. Refrigeração pode funcionar como microbiostática para a maioria dos organismos.		
Assepsia	Ausência de micro-organismo em uma área. Técnicas assépticas previnem a entrada de (sem infecção) micro-organismos.		
Degermação	Remoção de micro-organismos da pele por meio da remoção mecânica e/ou pelo uso de antissépticos. Exemplos; antes das injeções, o algodão embebido em álcool é passado na pele; igualmente o álcool-iodado, preparando o campo cirúrgico.		





Sumário dos Métodos Físicos Empregados no Controle do Crescimento Microbiano			
Método	Mecanismo de Ação	Comentários	Uso Preferencial
1. <i>Calor úmido</i> a) Fervura	Desnaturação de proteínas	Mata bactérias, fungos e muitos vírus em 15 min. Não é eficaz para todos os endósporos	Processo de desinfecção de larga utilização caseira
b) Autoclavação	Desnaturação de proteínas	Método eficaz de esterilização Ficar atento ao trinômio tempo × temperatura × pressão	Meios de cultura, soluções, utensílios e instrumentais que toleram temperatura e pressão
c) Pasteurização	Desnaturação de proteínas	Mata bactérias patogênicas eventualmente transmissíveis pelo leite e reduz o número de todos os micro-organismos presentes. Inativa enzimas	Leite, creme de leite, cerveja, vinho





Sumário dos Métodos Físicos Empregados no Controle do Crescimento Microbiano				
Método	Mecanismo de Ação	Comentários	Uso Preferencial	
Calor seco Flambagem	Oxidação de todo material até tornar cinzas	Método eficaz de esterilização	Alça e fio de platina	
b) Incineração	Oxidação de todo material até tornar cinzas	Método eficaz de esterilização	Papéis, carcaças de animais, restos de curativos, algodão e gazes utilizados em hospitais	
c) Fornos	Oxidação	Método eficaz de esterilização. Ficar atento ao binômio tempo × temperatura	Vidraria e outros materiais resistentes a altas temperaturas	





Sumário dos Métodos Físicos Empregados no Controle do Crescimento Microbiano				
Método	Mecanismo de Ação	Comentários	Uso Preferencial	
3. Filtração	Remoção mecânica	Separação de bactérias, fungos em meios ou soluções líquidas e gases	Útil na eliminação total de bactérias e fungos em produtos líquidos termolábeis e na filtração do ar em câmaras e salas	
4. <i>Radiações</i> a) Ionizantes	Destroem DNA, formam radicais superativos	Método eficaz de esterilização, mas de custo elevado (raios gama)	Usado para esterilização de produtos cirúrgicos	
b) Não ionizantes	Alteram DNA através da formação de dímeros	As radiações ultravioleta têm emprego restrito como esterilizante	Lâmpadas germicidas (UV)	
5. Baixas temperaturas Geladeira (-0°C), congelador (-20°C) e nitrog. líquido (-179°C)	Interrupção do metabolismo	Efeito microbiostático	Preservação de micro-organismos	





Controle dos microrganismos

Químicos

- Glutaraldeído 2%
- Ácido Peracético 15–17%
- Ortoftadeído







Controle dos microrganismos

Físico-Químicos

- Plasma Peróxido de Hidrogênio
- Óxido de Etileno
- VBTF (Vapor à Baixa Temperatura e Formaldeído)





CONTEÚDO DA AULA CONTEÚDO DA

CONTATOS









