



**e-Tec Brasil**  
*Escola Técnica Aberta do Brasil*

# **Microbiologia Básica**

*Irineide Teixeira de Carvalho*



**UFRPE/CODAI**  
**2010**

Presidência da República Federativa do Brasil

Ministério da Educação

Secretaria de Educação a Distância

© Colégio Agrícola Dom Agostinho Ikas (CODAI), órgão vinculado a Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Este Caderno foi elaborado em parceria entre o Colégio Agrícola Dom Agostinho Ikas (CODAI) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e a Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) para o Sistema Escola Técnica Aberta do Brasil – e-Tec Brasil.

**Reitor da UFRPE**

Prof. Valmar Correa de Andrade

**Vice-Reitor da UFRPE**

Prof. Reginaldo Barros

**Diretor do CODAI**

Prof. Luiz Augusto de Carvalho Carmo

**Equipe de Elaboração**

Colégio Agrícola Dom Agostinho Ikas (CODAI) / UFRPE

**Coordenadora Institucional**

Profa. Argélia Maria Araújo Dias Silva – CODAI / UFRPE

**Coordenadora do Curso**

Profa. Claudia Mellia – CODAI / UFRPE

**Professor Pesquisador**

Prof. Paulo Ricardo Santos Dutra – CODAI / UFRPE

**Equipe de Elaboração**

Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN

**Coordenação Institucional**

Vera Lucia do Amaral / UFRN

**Professor-autor**

Irineide Teixeira de Carvalho / UFRPE – CODAI

**Revisão**

Emanuelle Pereira de Lima Diniz / UFRN

Thalyta Mabel Nobre Barbosa / UFRN

Verônica Pinheiro da Silva / UFRN

**Diagramação**

José Antonio Bezerra Junior / UFRN

**Arte e Ilustração**

Roberto Luiz Batista de Lima / UFRN

**Revisão Tipográfica**

Nouraide Queiroz / UFRN

**Projeto Gráfico**

e-Tec/MEC

**Ficha catalográfica**

**Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central - UFRPE**

**C331m Carvalho, Irineide Teixeira de.**  
**Microbiologia básica / Irineide Teixeira de Carvalho. – Recife:**  
**EDUFRPE, 2010.**  
**108 p. : il.**

**ISBN: 978-85-7946-020-3**

**1. Microbiologia. 2. Bactérias. 3. Microorganismos. 4. Fungos.**  
**5. Vírus. 6. Microorganismos – Classificação. I.Título.**

**CDD 576**  
**CDU 579**

# Apresentação e-Tec Brasil

Prezado estudante,

Bem-vindo ao e-Tec Brasil!

Você faz parte de uma rede nacional pública de ensino, a Escola Técnica Aberta do Brasil, instituída pelo Decreto nº 6.301, de 12 de dezembro 2007, com o objetivo de democratizar o acesso ao ensino técnico público, na modalidade a distância. O programa é resultado de uma parceria entre o Ministério da Educação, por meio das Secretarias de Educação a Distância (SEED) e de Educação Profissional e Tecnológica (SETEC), as universidades e escolas técnicas estaduais e federais.

A educação a distância no nosso país, de dimensões continentais e grande diversidade regional e cultural, longe de distanciar, aproxima as pessoas ao garantir acesso à educação de qualidade, e promover o fortalecimento da formação de jovens moradores de regiões distantes, geograficamente ou economicamente, dos grandes centros.

O e-Tec Brasil leva os cursos técnicos a locais distantes das instituições de ensino e para a periferia das grandes cidades, incentivando os jovens a concluir o ensino médio. Os cursos são ofertados pelas instituições públicas de ensino e o atendimento ao estudante é realizado em escolas-polo integrantes das redes públicas municipais e estaduais.

O Ministério da Educação, as instituições públicas de ensino técnico, seus servidores técnicos e professores acreditam que uma educação profissional qualificada – integradora do ensino médio e educação técnica, – é capaz de promover o cidadão com capacidades para produzir, mas também com autonomia diante das diferentes dimensões da realidade: cultural, social, familiar, esportiva, política e ética.

Nós acreditamos em você!

Desejamos sucesso na sua formação profissional!

Ministério da Educação  
Janeiro de 2010

Nosso contato  
[etecbrasil@mec.gov.br](mailto:etecbrasil@mec.gov.br)



# Indicação de ícones

Os ícones são elementos gráficos utilizados para ampliar as formas de linguagem e facilitar a organização e a leitura hipertextual.



**Atenção:** indica pontos de maior relevância no texto.



**Saiba mais:** oferece novas informações que enriquecem o assunto ou “curiosidades” e notícias recentes relacionadas ao tema estudado.



**Glossário:** indica a definição de um termo, palavra ou expressão utilizada no texto.



**Mídias integradas:** remete o tema para outras fontes: livros, filmes, músicas, *sites*, programas de TV.



**Atividades de aprendizagem:** apresenta atividades em diferentes níveis de aprendizagem para que o estudante possa realizá-las e conferir o seu domínio do tema estudado.



# Sumário

<b>Palavra do professor-autor</b> .....	<b>11</b>
<b>Apresentação da disciplina</b> .....	<b>13</b>
<b>Projeto instrucional</b> .....	<b>15</b>
<b>Aula 1 – A evolução da Microbiologia</b> .....	<b>17</b>
1.1 História da evolução da Microbiologia .....	17
1.2 Quem descobriu os microrganismos?.....	18
1.3 O que é biogênese e abiogênese ou geração espontânea?.....	18
1.4 Quem foi Louis Pasteur?.....	19
1.5 A Microbiologia como ciência.....	20
<b>Aula 2 – Classificação dos microrganismos</b> .....	<b>23</b>
2.1 Os seres vivos .....	23
2.2 Célula.....	23
2.3 Classificação dos 5 reinos.....	24
2.4 Principais características dos grupos de microrganismos.....	25
<b>Aula 3 – Características das bactérias</b> .....	<b>29</b>
3.1 Características gerais das bactérias.....	29
3.2 Tamanho.....	29
3.3 Morfologia.....	30
3.4 Estruturas bacterianas.....	32
3.5 Parede celular.....	33
<b>Aula 4 – Fungos e vírus</b> .....	<b>41</b>
4.1 Fungos e vírus .....	41
4.2 Características dos fungos em relação às bactérias .....	43
4.3 Modo de vida dos fungos de acordo com o tipo de alimentação .....	44
4.4 Tipos de reprodução .....	44
4.5 Diversidade morfológica dos fungos .....	46
4.6 Vírus .....	47



<b>Aula 5 – Curva de crescimento dos microrganismos</b> .....	<b>53</b>
5.1 Esquema da progressão.....	53
5.2 Atividade da água.....	56
5.3 Acidez (pH).....	61
5.4 Oxigênio.....	62
5.5 Composição química.....	63
5.6 Fatores antimicrobianos naturais.....	64
5.7 Interações entre microrganismos.....	65
5.8 Umidade.....	67
<b>Aula 6 – Alterações microbianas sobre as substâncias dos alimentos</b> .....	<b>69</b>
6.1 Alterações microbianas sobre os alimentos .....	69
6.2 Fontes de microrganismos encontrados em alimentos .....	70
6.3 Alterações microbianas sobre os constituintes dos alimentos .....	70
6.4 Utilização dos carboidratos .....	71
<b>Aula 7 – Mecanismos de produção de doenças dos microrganismos</b> .....	<b>77</b>
7.1 Infecções e toxinfecções .....	77
7.2 Mecanismos de patogenicidade .....	77
7.3 Relação entre agente X hospedeiro .....	79
7.4 Multiplicação nos tecidos do hospedeiro .....	79
7.5 Produção de toxinas .....	80
<b>Aula 8 – Normas em laboratório de Microbiologia</b> .....	<b>83</b>
8.1 Normas em laboratório de Microbiologia .....	83
8.2 Normas de trabalho microbiológico .....	84
<b>Aula 9 – Processo de esterilização, desinfecção e preparo do material para uso em análises microbiológicas de alimentos</b> .....	<b>87</b>
9.1 Processo de esterilização e desinfecção .....	87
9.2 Agentes utilizados .....	87
9.3 Biofilmes microbianos .....	88



9.4 Preparação do álcool a 70% .....	90
9.5 Diluição de produtos clorados em PPM .....	91
9.6 Preparo do material para uso em análises microbiológicas de alimentos .....	92
<b>Aula 10 – Coleta, transporte e estocagem de amostras para análise.....</b>	<b>97</b>
10.1 Coleta de amostras .....	97
10.2 Coleta de amostra para análise .....	98
<b>Aula 11 – Contagem total de microrganismos em placas.....</b>	<b>101</b>
11.1 Contagem total de microrganismos em placas .....	101
11.2 Diluição de amostra e plaqueamento em profundidade ..	101
<b>Referências.....</b>	<b>107</b>
<b>Currículo do professor-autor.....</b>	<b>109</b>



# Palavra do professor-autor

---

Caro aluno!

A Microbiologia Básica servirá de base para o entendimento do papel dos microrganismos para a vida. Nesta disciplina, você estudará quem são os microrganismos, como foram descobertos, como são e como podem ser importantes na tecnologia de alimentos, participando em vários processos como produção, conservação e deterioração de alimentos e, ainda, como promotores de doenças.

O conteúdo abordado lhe deixará estimulado a continuar os estudos da microbiologia dos alimentos, pois você verá que esses fazem parte do nosso dia a dia.



# Apresentação da disciplina

Esta disciplina será composta de 11 aulas. Na Aula 1, você terá a oportunidade de entender a evolução da Microbiologia, como foram as primeiras descobertas dos microrganismos, os principais responsáveis por essa evolução e a importância da Microbiologia para a nossa vida.

Na Aula 2, você estudará a classificação dos seres vivos e suas principais características. Você verá na aula anterior, que existem no mundo diversos tipos de microrganismos. Esses microrganismos apresentam características biológicas diferentes, ou seja, diferenças no formato, no tamanho, funções fisiológicas e metabólicas, como também na sua capacidade de pôr em risco a saúde do homem. Quanto ao metabolismo dos microrganismos, as bactérias e fungos possuem vida própria, podendo multiplicar-se nos alimentos e aumentar em número, além de produzir toxinas. Já os vírus dependem de um hospedeiro para sua multiplicação.

Você conhecerá as características das bactérias na Aula 3.

Já na Aula 4, você dará continuidade ao estudo das características dos microrganismos, através da análise das principais características dos fungos e vírus.

Na Aula 5, você saberá como os microrganismos descrevem a curva de crescimento e quais os fatores que influenciam nesse crescimento. Com esses conhecimentos saberá como aumentar o tempo de prateleira dos alimentos e produzir alimentos a partir dos microrganismos. Saberá também como evitar infecções e toxinfecções alimentar. Como você verá, o aprendizado desta aula é base fundamental para a disciplina de Microbiologia dos Alimentos.

Na Aula de número 6, você estudará os principais microrganismos de interesse na Microbiologia dos Alimentos, por serem sempre encontrados em gêneros alimentícios, animais e vegetais. Os alimentos podem constituir um risco para o consumidor, quando microrganismos patogênicos estão presentes e encontram condições favoráveis para se multiplicar e ou produzir toxinas.

Na aula seguinte, você aprenderá que tipos de doenças podem ser difundidos por alimentos e quais são os mecanismos de patogenicidade dos microrganismos.

A partir da Aula 8, você estudará todas as atividades relacionadas ao trabalho de análises microbiológicas em laboratório. Iniciaremos com as normas definidas para higiene do pessoal que trabalha no laboratório, dos equipamentos e utensílios e a sequência de planejamento. Ainda nessa aula, você verá que para obtenção de um resultado analítico confiável devemos ter todo o cuidado para evitar que contaminantes encontrados no ambiente de análise bem como nos equipamento, vidrarias e utensílios cheguem a amostra, modificando a carga microbiana original. Dessa forma, os processos de esterilização e desinfecção são parte das etapas de análises microbiológicas de fundamental importância.

Na Aula 9, você conhecerá os agentes físicos e químicos utilizados no processo de esterilização e desinfecção, as diluições de álcool e cloro utilizados nos processos de desinfecção, e as etapas do preparo do material utilizado nas análises microbiológicas. Verá também que o resultado analítico de uma amostra ou lote depende significativamente de como a amostra foi coletada, transportada e estocada. Assim sendo, na Aula 10 abordaremos a forma correta de realização dessas etapas.

Na última aula, você conhecerá o método de contagem total de microrganismos em placas.

# Projeto instrucional

---

**Instituição:** Universidade Federal Rural de Pernambuco – CODAI

**Nome do Curso:** Produção Alimentícia

**Professor-autor:** Irineide Teixeira de Carvalho

**Disciplina:** Microbiologia Básica





# Aula 1 – A evolução da Microbiologia

## Objetivos da aula

Ao final da aula você deverá ter condições de:

Reconhecer a importância da descoberta do microscópio para a Microbiologia.

Diferenciar a abiogênese da biogênese.

Identificar a importância de Louis Pasteur para a abiogênese.

Identificar o início da Microbiologia e a sua importância para a nossa vida.

## 1.1 História da evolução da Microbiologia

A Microbiologia é uma ciência que foi impulsionada com a descoberta do microscópio por Leuwenhoek (1632 – 1723). A partir da descoberta do microscópio e a constatação da existência dos microrganismos, os cientistas começaram a indagar sua origem, surgindo então, as teorias da abiogênese ou geração espontânea e a biogênese. Após os experimentos de Spallanzani que provaram que infusões quando aquecidas, esterilizadas e fechadas hermeticamente para evitar recontaminação impediam o aparecimento de microrganismos, a abiogênese foi descartada.

Acredita-se que os microrganismos (organismos pequenos só visíveis com o auxílio de lentes) apareceram na terra há bilhões de anos a partir de um material complexo de águas oceânicas ou de nuvens que circulavam a terra. Os microrganismos são antigos, porém a microbiologia como ciência é jovem, uma vez que os microrganismos foram evidenciados há 300 anos e só foram estudados e compreendidos 200 anos depois.

## 1.2 Quem descobriu os microrganismos?

Antony Van Leeuwenhoek (1632 – 1723) era um homem comum que possuía um armazém, era zelador da prefeitura e servia como provador oficial de vinhos para a cidade de Delft na Holanda. Tinha como *hobby* polir lentes de vidro, as montava entre finas placas de bronze ou prata para inspecionar fibras e tecelagem de roupas, flores, folhas e pingos d'água. Na época, era comum o interesse pelo mundo natural, mas Leeuwenhoek tinha o cuidado de descrever, detalhadamente, tudo o que fazia e o que observava com suas lentes.

Usando seu precário microscópio, observava águas de rios, infusões de pimenta, saliva, fezes, etc.; até que verificou nesses materiais, a presença de um grande número de pequeníssimos objetos móveis e de formas diferentes, que não poderiam ser vistos sem a ajuda das lentes, e os chamou de “animáculos” por acreditar que seriam pequeninos animais vivos.

Leeuwenhoek fez observações magníficas sobre a estrutura microscópica das sementes e embriões de vegetais, animais invertebrados, espermatozoides, sangue, circulação sanguínea etc. Uma dimensão inteiramente nova enriqueceu a biologia (bio = vida, logia = estudo). Todos os tipos principais de microrganismos que hoje conhecemos – protozoários, algas, fungos e bactérias foram primeiramente descritos por Leeuwenhoek.

## 1.3 O que é biogênese e abiogênese ou geração espontânea?

Após a revelação ao mundo da presença dos microrganismos, os cientistas começaram a indagar a origem desses seres e se dividiram em duas correntes de pensamento as quais veremos a seguir.

**Biogênese** – Alguns cientistas acreditavam, inclusive Leeuwenhoek, que as “sementes” destas criaturas microscópicas estão sempre presentes no ar, de onde ganham acesso aos materiais e ali crescem desde que as condições sejam adequadas ao seu desenvolvimento. A essa forma de multiplicação dos microrganismos chamou-se biogênese.

**Abiogênese** – Outros cientistas acreditavam que os microrganismos se formavam espontaneamente a partir da matéria orgânica em decomposição ou putrefação, essa forma de multiplicação chamou-se abiogênese.

A abiogênese também ficou conhecida como geração espontânea.

A crença na geração espontânea de seres vivos teve uma longa existência. A ideia da geração espontânea teve origem na Grécia Antiga, que acreditava que rãs e minhocas surgiam, espontaneamente, de um pequeno lago ou lama. Outros acreditavam que larvas de insetos e moscas eram produzidas a partir de carne em decomposição. Pouco a pouco, essas ideias foram perdendo força, por demonstrações científicas como a do médico italiano Francesco Redi (1626 – 1697), que demonstrou que as larvas encontradas na carne em putrefação eram larvas de ovos de insetos e não um produto da geração espontânea.

Convencer os que apoiavam a abiogênese de que um ser não poderia surgir apenas da matéria orgânica, tornou-se bem mais difícil, principalmente, a partir do experimento de Heedham em 1749, que demonstrou que, de muitos tipos diferentes de infusões, invariavelmente, emergiam criaturas microscópicas (microrganismos), independentemente do tratamento que receberam, protegidas ou não, fervidas ou não. Hoje, sabe-se que os experimentos de Heedham foram falhos, pois este não tomava precauções higiênicas para proteger seus experimentos do ar circundante, permitindo dessa forma a contaminação de suas infusões.

Cinquenta anos após os experimentos de Heedham, Spallanzani evidenciou em centenas de experiências, que o aquecimento das infusões até esterilização, pode impedir a contaminação por microrganismos. Posteriormente, Spallanzani concluiu que poderá haver recontaminação das infusões por condução dos microrganismos pelo ar, desde que o frasco que a contenha não esteja hermeticamente fechado ou apresente rachadura, propiciando na infusão, o aparecimento de colônias de microrganismos.

## 1.4 Quem foi Louis Pasteur?

Louis Pasteur (1822 – 1895) era um químico francês bastante respeitado na época por seus inúmeros trabalhos científicos, dedicou seus consideráveis talentos ao estudo dos microrganismos. Interessou-se pela indústria de vinhos franceses e pela função dos microrganismos na produção de álcool. Este interesse incentivou-o a continuar o debate sobre a origem dos microrganismos, uma vez que ainda persistiam alguns defensores da geração espontânea ou abiogênese, a exemplo do naturalista francês Félix Archimède Pouchet (1800 – 1872). Pasteur fez uma série de experimentos definitivos. Um dos principais processos foi o uso de frascos de colo longo e curvado, semelhante ao pescoço

de cisnes, que foram preenchidos com caldo nutritivo e aquecidos. O ar podia passar livremente através dos frascos abertos, mas nenhum microrganismo surgiu na solução. A poeira e os microrganismos depositavam-se na área sinuosa em forma de **V** do tubo e, portanto, não atingiam o caldo. Seus resultados foram comunicados com entusiasmo na Universidade de Sorbonna, em Paris, em 7 de abril de 1864.



**Figura 1.1: Louis de Pasteur**

Fonte: <http://www.sil.si.edu/digitalcollections/hst/scientific-identity/fullsize/SIL14-P002-04a.jpg>



Pasteur deu um grande impulso na tecnologia de alimentos. O processo de preservação dos alimentos pela pasteurização foi criado por esse ilustre cientista, e o nome do processo de pasteurização foi dado em sua homenagem. Você terá a oportunidade de saber como funciona a pasteurização na disciplina de Microbiologia dos alimentos.

## 1.5 A Microbiologia como ciência

Muitos curiosos e cientistas contribuíram para o estudo da Microbiologia como ciência. Seu início se deu na segunda metade do século XIX, quando os cientistas provaram que os microrganismos originaram-se de pais iguais a eles próprios e não de causas sobrenaturais ou de plantas e animais em putrefação, como na teoria de geração espontânea.



É preciso fazer experimentos e comprovar, cientificamente, antes de defender ou afirmar uma tese. Muito cuidado! Você pode está repetindo erros, como os que defendiam a abiogênese.

A Microbiologia preocupa-se com o estudo dos microrganismos e de suas atividades. Estuda a forma, a estrutura, a reprodução, a fisiologia, o metabolismo e a identificação dos seres microscópicos. Estuda sua distribuição natural, suas relações recíprocas e com outros seres vivos, seus efeitos benéficos e prejudiciais sobre os homens e as alterações físicas e químicas que provocam em seu meio ambiente.

Em sua maior parte, a Microbiologia trata com organismos microscópicos unicelulares. Nos indivíduos unicelulares todos os processos vitais são realizados numa única célula. Independentemente da complexidade de um organismo, a célula é, na verdade, a unidade básica da vida. No processo de reprodução, os organismos vivos mantêm uma identidade de espécie, possuindo potencialidades de alterações, buscando encontrar um modo especial de sobreviver.

A tarefa dos microrganismos na natureza é algo sensacional, especialmente, quando se lembra de seu papel como regulador do equilíbrio entre seres vivos e mortos.

Você viu ao longo da aula que a Microbiologia está presente em nosso dia a dia. Com base nisso, será que na atualidade leigos têm espaço para contribuir com a Microbiologia? Justifique a sua resposta.



## Resumo

Nesta aula, você aprendeu sobre a evolução da Microbiologia, as suas primeiras descobertas, os principais responsáveis por essa evolução e a importância dessa ciência para a nossa vida.

## Atividades de aprendizagem

1. Quando apareceram os microrganismos na Terra?
2. Que são microrganismos?
3. Quando se evidenciou a presença dos microrganismos?
4. Quem foi Antony Van Leuwenhoek?

5. Qual a importância do microscópio para a Microbiologia?
6. O que diferenciou Leuwenhoek dos demais investigadores amadores?
7. Como Leuwenhoek observou os microrganismos?
8. O que caracteriza a teoria da abiogênese?
9. O que caracteriza a teoria da biogênese?
10. Como e por quem a teoria da abiogênese foi descartada?
11. Que experimento colocou fim, definitivamente, na abiogênese?
12. Quem foi Louis de Pasteur?
13. Que método de conservação dos alimentos teve como origem o nome de Louis de Pasteur?
14. O que é Microbiologia?
15. O que se propõe estudar a Microbiologia?
16. Qual a origem da palavra Microbiologia?



# Aula 2 – Classificação dos microrganismos

## Objetivos da aula

Ao final da aula você deverá ter condições de:

Identificar a célula como unidade comum a todos os seres vivos, bem como sua estrutura.

Reconhecer os reinos Monera, Protista, Plantae, Animalia e Fungi.

Identificar as características dos reinos Monera, Protista, Plantae, Animalia e Fungi.

## 2.1 Os seres vivos

Os seres vivos são constituídos de unidades microscópicas chamadas de células que formam, em conjunto, estruturas organizadas. As células são compostas de núcleo e citoplasma. Quando o núcleo celular é circundado por uma membrana nuclear ou carioteca, os organismos que as possuem são chamados de eucarióticos, os que não possuem células com carioteca são os procarióticos a exemplo das bactérias.

Baseado na maneira pela qual os organismos obtêm alimentos, Robert H. Whittaker classificou os organismos vivos em 5 reinos: reino Monera, reino Protista, reino Plantae, reino Animalia e reino Fungi. Os microrganismos pertencem a três dos cinco reinos: as bactérias são do reino Monera, os protozoários e algas microscópicas são Protistas e os fungos microscópicos como leveduras e bolores pertencem ao reino Fungi.

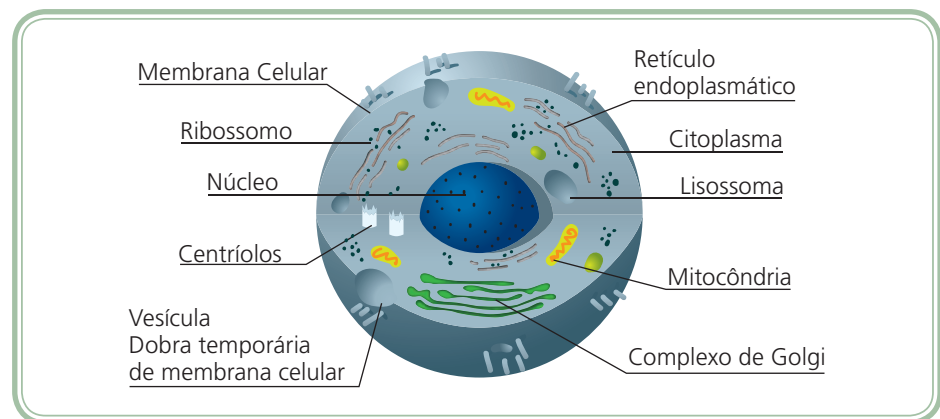
## 2.2 Célula

A célula é uma estrutura típica microscópica comum a todos os seres vivos. Com os avanços da microscopia eletrônica na década de 1940, foi possível a visualização de muitas estruturas da célula que seria impossível no microscópio óptico.

Todas as células se compõem de duas regiões internas principais conhecidas como núcleo e citoplasma. O núcleo, que é circundado pelo citoplasma, contém todas as informações genéticas do organismo, sendo responsável pela hereditariedade. O citoplasma é a sede primária dos processos de síntese e o centro das atividades funcionais em geral.

Em algumas células, o núcleo é circundado por uma membrana denominada de membrana nuclear ou carioteca. Compreendem o grupo das eucarióticas, os protozoários, os fungos, a maior parte das algas. Estas células se assemelham as dos animais e plantas. Em contraste, as bactérias e o pequeno grupo de algas azul-verdes se caracterizam por células menores procarióticas por não apresentarem membrana nuclear.

Nas plantas e microrganismos, a parede celular é a única estrutura limitante. Seu único papel parece ser o de proteção contra injúrias mecânicas e impedem, principalmente, a ruptura osmótica quando a célula é colocada em ambiente com alto teor de água. Veja a Figura 2.1 a seguir.



**Figura 2.1: Estrutura esquemática de uma célula**



Os microrganismos protozoários são estudados na ciência da Parasitologia.



Baseando-se nas descrições acima, esquematize uma célula.

## 2.3 Classificação dos 5 reinos

A classificação dos organismos, mais recente, proposta por Robert H. Whittaker em 1969, foi baseada a partir da maneira pela qual o organismo obtém nutrientes de sua alimentação. Veja:

1. **Fotossíntese** – processo pelo qual a luz fornece energia para converter o dióxido de carbono em água e açúcares.
2. **Absorção** – a captação de nutrientes químicos dissolvidos em água.
3. **Ingestão** – entrada de partículas de alimentos não dissolvidas.

Nesse esquema de classificação, os procariotos que normalmente obtêm alimentos só por absorção constituem o **reino Monera**. O **reino Protista** inclui os microrganismos eucarióticos unicelulares, que representam os três tipos nutricionais: as algas são fotossintéticas, os protozoários podem ingerir seu alimento e os fungos limosos somente absorvem os nutrientes. Os organismos eucarióticos superiores são colocados no **reino Plantae** (plantas verdes fotossintéticas e algas superiores), **Animalia** (animais que ingerem alimentos) e **Fungi**, organismos que têm parede celular, mas não apresentam o pigmento clorofila encontrado em outras plantas para promover a fotossíntese, portanto eles absorvem os nutrientes. Como pode se observar, os microrganismos pertencem a três dos cinco reinos.

## 2.4 Principais características dos grupos de microrganismos

- **Protozoários** – são microrganismos eucarióticos unicelulares. Como os animais ingerem partículas alimentares, não apresentam parede celular rígida e não contêm clorofila. Movem-se através de cílios, flagelos ou pseudópode. Estes microrganismos são estudados na ciência da Parasitologia (estudo dos parasitas).

São amplamente distribuídos na natureza, principalmente, em ambientes aquáticos. Muitos são nocivos ao homem como a ameba e a giárdia.



Figura 2.2: Protozoários

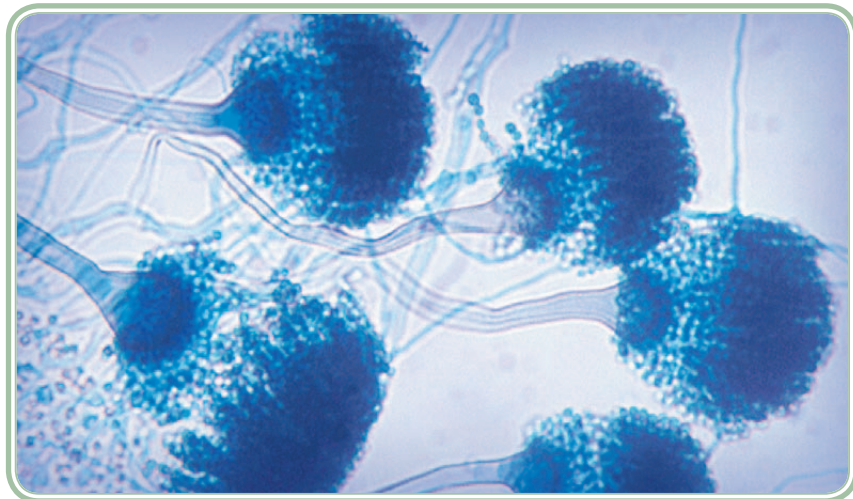
- **Algas** – são semelhantes às plantas por possuírem clorofila que participa do processo de fotossíntese e apresentam uma parede celular rígida. São eucariotos e podem ser unicelulares ou multicelulares com vários metros de comprimento. Podem ser nocivas por produzirem toxinas, obstruir caixas d'água ou crescerem em piscinas. Entretanto, algumas espécies são usadas nas indústrias de alimentos, farmacêuticas, cosméticos e para o uso em laboratório. As algas não são estudadas na Microbiologia de alimentos.



**Figura 2.3: Algas**

Fonte: <http://www.sxc.hu/photo/816065>

- **Fungos** – podem ser unicelulares ou multicelulares. São eucariotos e possuem parede celular rígida. Os fungos não ingerem alimentos e obtêm os nutrientes do ambiente através de absorção.



**Figura 2.4: Fungos**

- **Bactérias** – são procariotos, carecem de membrana nuclear e outras estruturas celulares organizadas observadas em eucariotos.



Figura 2.5: Bactérias

- **Vírus** – representam o limite entre as formas vivas e as sem vida. Não são células como as descritas anteriormente, contêm somente um tipo de ácido nucleico, RNA ou DNA que é circundado por um envelope proteico ou capa. Devido à ausência de componentes celulares necessários para o metabolismo ou reprodução independente, o vírus pode multiplicar-se somente dentro de células vivas, por isso não são considerados seres vivos por não possuírem vida própria.

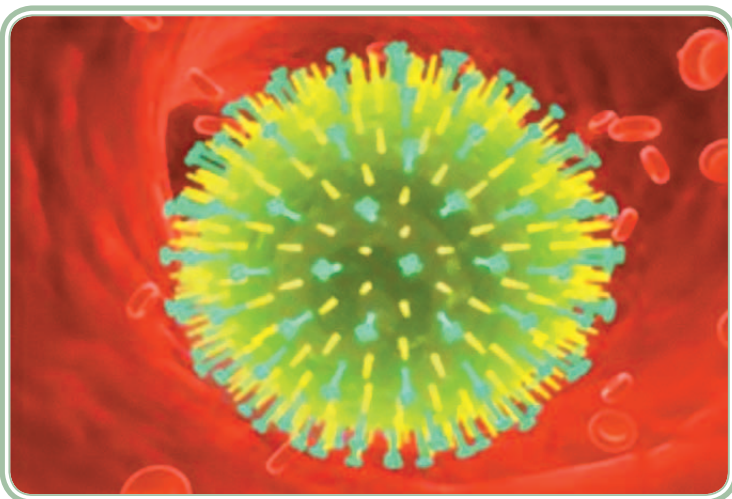


Figura 2.6: Vírus

Liste as principais características dos grupos de microrganismos vistos nesta aula.



## Resumo

Nesta aula, você estudou a classificação dos seres vivos em Monera, Protista, Plantae, Animalia e Fungi e as suas principais características.

## Atividades de aprendizagem

1. O que é a célula?
2. Quais as duas principais regiões da célula?
3. Como essas regiões se dispõem na célula e qual a função de cada uma delas?
4. O que é carioteca?
5. Como se chamam os microrganismos cujas células possuem carioteca?
6. Como se chamam os microrganismos cujas células não possuem carioteca?
7. Que microrganismos fazem parte do grupo dos eucarióticos?
8. Que microrganismos fazem parte do grupo dos procarióticos?
9. Qual o papel da parede celular?
10. Em que se baseia a classificação dos cinco reinos?
11. Quais são os cinco reinos e quem propôs?
12. Quais as formas de nutrição dos microrganismos?
13. Que tipos de nutrição representam cada reino?
14. Os microrganismos pertencem a qual dos cinco reinos?
15. Quais as principais características dos protozoários, algas, fungos, bactérias e vírus?

# Aula 3 – Características das bactérias

## Objetivo da aula

Ao final da aula você deverá ter condições de:

Identificar as características das bactérias com relação ao tamanho, a morfologia e as estruturas da sua célula.

## 3.1 Características gerais das bactérias

- São seres unicelulares, aparentemente simples, sem carioteca, ou seja, sem membrana delimitante do núcleo. Há um único compartimento, o citoplasma.
- O material hereditário, uma longa molécula de DNA, está enovelada na região, aproximadamente central, sem qualquer separação do resto do conteúdo citoplasmático. Suas paredes celulares, quase sempre, contêm o polissacarídeo complexo peptidoglicano.
- Usualmente se dividem por fissão binária. Durante este processo, o DNA é duplicado e a célula se divide em duas.

A seguir, você irá estudar mais detalhadamente as características de maior importância para o entendimento das aulas seguintes.

## 3.2 Tamanho

Invisíveis a olho nu, só podendo ser visualizada com o auxílio do microscópio, as bactérias são normalmente medidas em micrômetros ( $\mu\text{m}$ ), que são equivalentes a  $1/1000\text{mm}$  ( $10^{-3}\text{mm}$ ). As células bacterianas variam de tamanho dependendo da espécie, mas a maioria tem aproximadamente de  $0,5$  a  $1\mu\text{m}$  de diâmetro ou largura. Veja a Figura 3.1 a seguir.



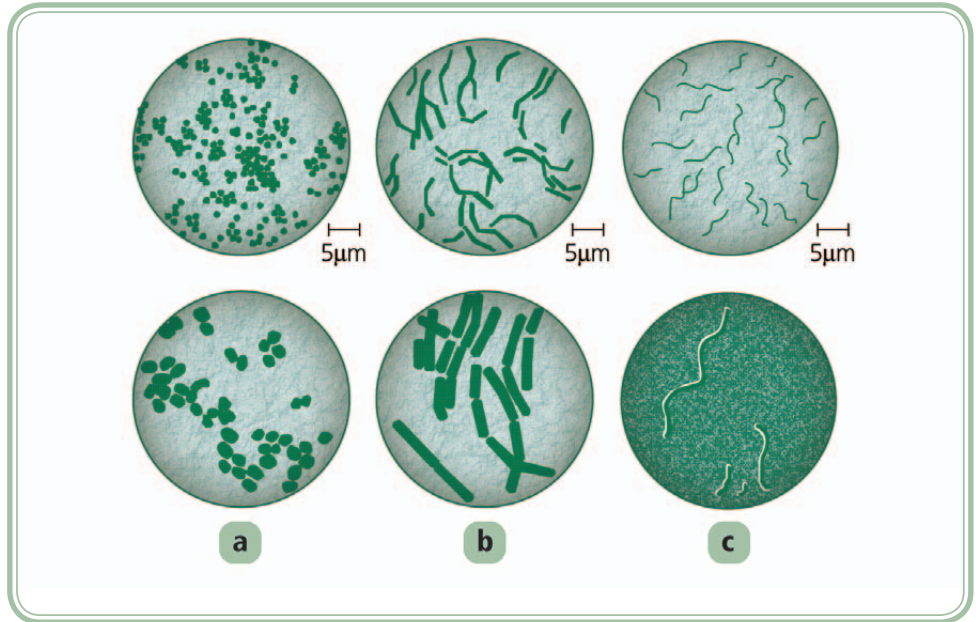


Figura 3.1: Visualização das bactérias com o auxílio do microscópio

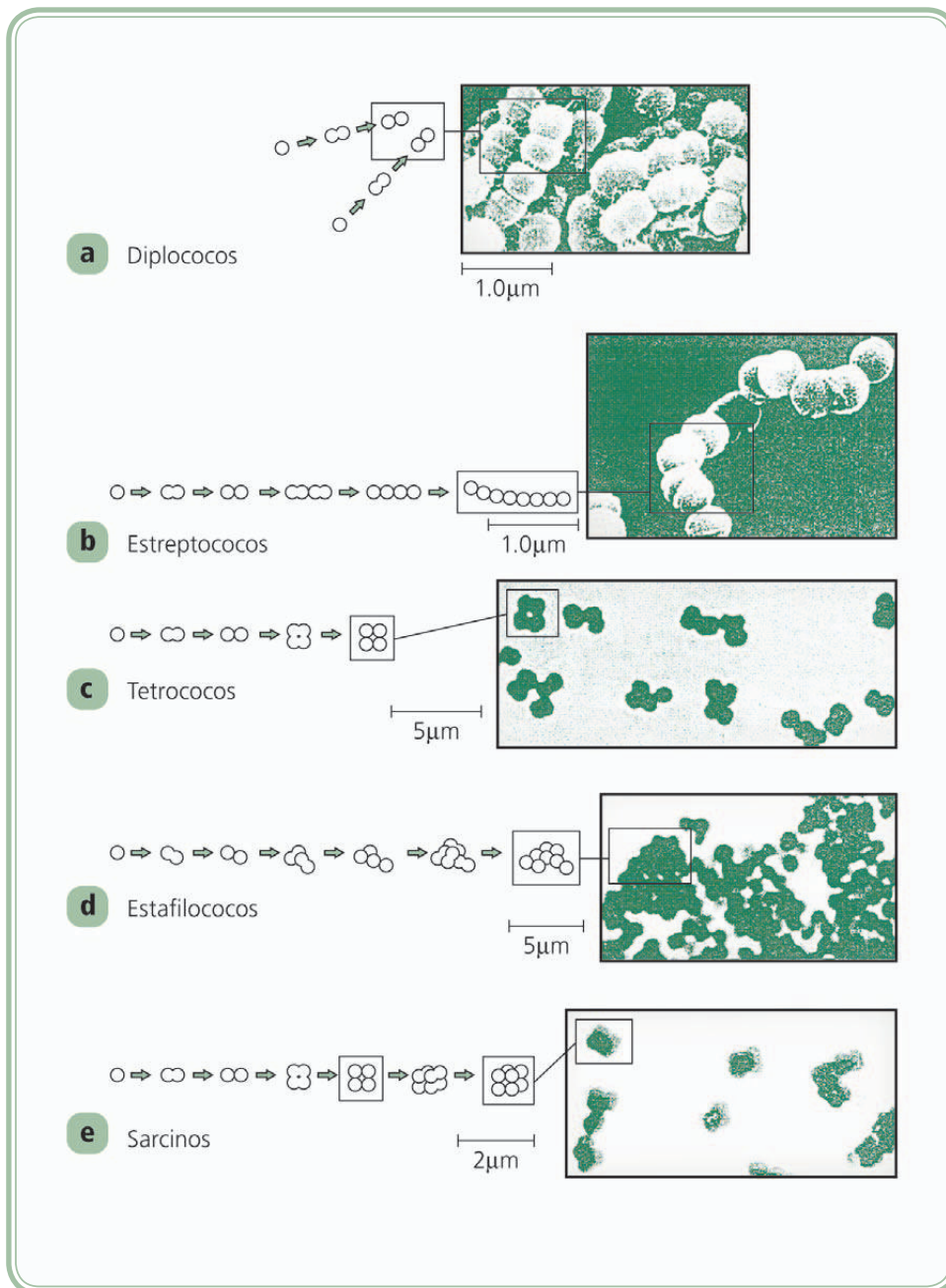
### 3.3 Morfologia

Há uma grande variedade de tipos de bactérias e suas formas variam, dependendo do gênero da bactéria e das condições em que elas se encontram.

Apresentam uma das três formas básicas: cocos, bacilos e espirilos.

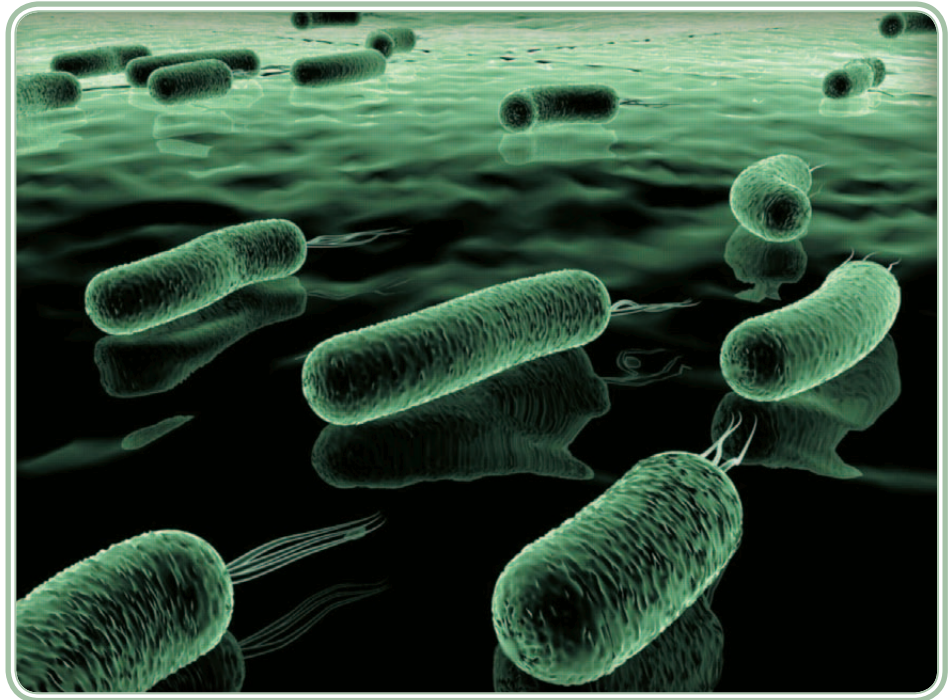
- Cocos – são células geralmente arredondadas, mas podem ser ovoides ou achatadas em um dos lados quando estão aderidas a outras células. Os cocos quando se dividem para se reproduzir, podem permanecer unidos uns aos outros, o que os classificam em:
  - a) Diplococos – são os que permanecem em pares após a divisão.
  - b) Estreptococos - são aqueles que se dividem e permanecem ligados em forma de cadeia.
  - c) Tétrades – são aqueles que se dividem em dois planos e permanecem em grupos de quatro.
  - d) Estafilococos - são aqueles que se dividem em múltiplos planos e formam cachos (forma de arranjo).
  - e) Sarcinas - são os que se dividem em três planos, permanecendo unidos em forma de cubo com oito bactérias.

Veja a seguir a Figura 3.2 representando os tipos de arranjos.



**Figura 3.2: Visualização da classificação dos Cocos**

- Bacilos – são células cilíndricas ou em forma de bastão. Existem diferenças consideráveis em comprimento e largura entre as várias espécies de bacilos. As porções terminais de alguns bacilos são quadradas, outras arredondadas e, ainda, outras são afiladas ou pontiagudas.



**Figura 3.3: Fotografia de Bacilos**

- Espirilos – são células espiraladas ou helicoidais assemelhando-se a um saca-rolha.



Os espirilos não são evidenciados em Microbiologia de alimentos

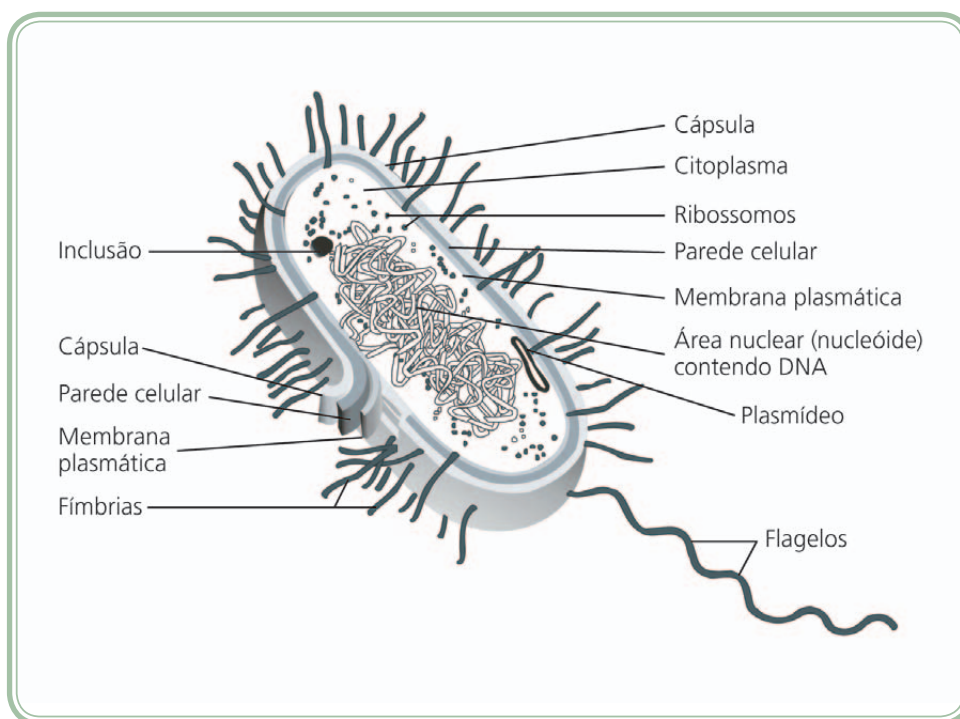


Existem modificações dessas três formas básicas (cocos, bacilos e espirilos), chamada de pleomórficas. O pleomorfismo é a alteração da forma básica da bactéria decorrente de contaminação da cultura, envelhecimento da cultura, entre outros fatores.

### **3.4 Estruturas bacterianas**

Com a ajuda do microscópio, podemos observar uma diversidade de estruturas, funcionando juntas numa célula bacteriana. Algumas dessas estruturas são encontradas externamente fixadas à parede celular, enquanto outras são internas. A parede celular e a membrana citoplasmática são comuns a todas as células bacterianas.

A seguir, veja na Figura 3.4, de forma esquemática, as estruturas de uma célula procariótica.



**Figura 3.4: Estrutura de uma célula bacteriana**

## 3.5 Parede celular

A parede celular é uma estrutura rígida que mantém a forma característica de cada célula bacteriana. A estrutura é tão rígida que mesmo altas pressões ou condições físicas adversas raramente mudam a forma das células bacterianas. É essencial para o crescimento e divisão da célula.

As paredes celulares das células bacterianas não são estruturas homogêneas, apresentam camadas de diferentes substâncias que variam de acordo com o tipo de bactéria. Elas diferem em espessura e em composição. Além de dar forma à bactéria, a parede celular serve como barreira para algumas substâncias, previne a evasão de certas enzimas, assim como a entrada de certas substâncias químicas e enzimas indesejáveis, que poderiam causar danos à célula. Nutrientes líquidos necessários à célula têm passagem permitida.

### 3.5.1 Membrana citoplasmática

Localiza-se imediatamente abaixo da parede celular. A membrana citoplasmática é o local onde ocorre a atividade enzimática e do transporte de moléculas para dentro e para fora da célula. É muito mais seletiva à passagem de substâncias externas que a parede celular.

## 3.5.2 Estruturas externas a parede celular

### 3.5.2.1 Glicocálice

Significa revestimento de açúcar – é um envoltório externo à membrana plasmática que ajuda a proteger a superfície celular contra lesões mecânicas e químicas. É composto de moléculas de açúcar associadas aos fosfolipídios e às proteínas dessa membrana. O glicocálice bacteriano é um polímero viscoso e gelatinoso que está situado externamente à parede celular. Na maioria dos casos, ele é produzido dentro da célula e excretado para a superfície celular. O glicocálice é descrito como uma cápsula.

Em certas espécies, as cápsulas são importantes no potencial de produção de doenças da bactéria. As cápsulas, frequentemente, protegem as bactérias patogênicas da fagocitose pelas células do hospedeiro.

### 3.5.2.2 Flagelos e cílios

Flagelo significa chicote – longo apêndice filamentoso que serve para locomoção. Se as projeções são poucas e longas em relação ao tamanho da célula, são denominados flagelos. Se as projeções são numerosas e curtas lembrando pelos, são denominados cílios.

Existem quatro tipos de arranjos de flagelos, que são:

- Monotríquio (um único flagelo polar).
- Anfitríquio (um único flagelo em cada extremidade da célula).
- Lofotríquio (dois ou mais flagelos em cada extremidade da célula).
- Peritríquio (flagelos distribuídos por toda célula).

As bactérias móveis contêm receptores em várias localizações, como dentro ou logo abaixo da parede celular. Estes receptores captam os estímulos químicos, como o oxigênio, a ribose e a galactose. Em resposta aos estímulos, a informação é passada para os flagelos. Se um sinal quimiotático (estímulo químico) é positivo, denominado atraente, as bactérias se movem em direção ao estímulo com muitas corridas e poucos desvios. Se um sinal é negativo, denominado repelente, a frequência de desvios aumenta à medida que a bactéria se move para longe do estímulo.

As bactérias patogênicas flageladas são consideradas mais **virulentas** que as não flageladas

A-Z

**Virulentas**  
Significa potência da minifetação clínica.

### 3.5.2.3 Filamentos axiais

São feixes de fibrilas que se originam nas extremidades das células e fazem uma espiral em torno destas. A rotação dos filamentos produz um movimento que propela as espiroquetas (bactérias que possuem estrutura e motilidade exclusiva) como a *Treponema pallidum*, o agente causador da sífilis, em um movimento espiral. Este movimento é semelhante ao modo como o saca-rolha se move, permitindo que as bactérias se movam efetivamente através dos tecidos corporais.

### 3.5.2.4 Fimbrias e pili

São apêndices semelhantes a pelos mais curtos, mais retos e mais finos que os flagelos, são usados para fixação em vez de motilidade. Essas estruturas, que distribuídas de modo helicoidal em torno de um eixo central, são divididas em fimbrias e pili, possuindo funções diversas. As fimbrias permitem as células aderir às superfícies, incluindo as de outras células. As fimbrias de bactérias *Neisseria gonorrhoeae*, o agente causador da gonorreia, auxiliam o micróbio a colonizar as membranas mucosas e uma vez que a colonização ocorre, as bactérias podem causar doenças.

Os pili (singular *pilus*), normalmente, são mais longos que as fimbrias, havendo apenas um ou dois por célula. Os pili unem-se as células bacterianas na preparação para transferência de DNA de uma célula para outra.

## 3.5.3 Área nuclear ou nucleóide

Contém uma única molécula circular longa de DNA de dupla fita, o cromossomo bacteriano. É a formação genética da célula que transporta toda informação necessária para as estruturas e as funções celulares.

### 3.5.3.1 Ribossomos

Servem como locais de síntese proteica. São compostos de duas subunidades, cada qual consistindo de proteínas e de um tipo de RNA denominado ribossômico (RNA<sub>r</sub>). Os ribossomos procarióticos diferem dos eucarióticos no número de proteínas e de moléculas de RNA. Devido a essa diferença, a célula microbiana pode ser morta pelo antibiótico, enquanto a célula do hospedeiro eucariótico permanece intacta.

### 3.5.3.2 Esporos

Os esporos se formam dentro da célula bacteriana, chamada de endósporos, são exclusivos de bactérias. São células desidratadas altamente duráveis, com paredes espessas e camadas adicionais.



Os gêneros *Bacillus* e *Clostridium* podem apresentar esporos, estruturas que constituem formas de defesa e não devem ser confundidas com unidades reprodutivas. Na forma de esporos, essas bactérias têm a capacidade de resistir à ação de agentes químicos diversos, às temperaturas inadequadas, aos meios de radiação, ácidos e outras condições desfavoráveis.

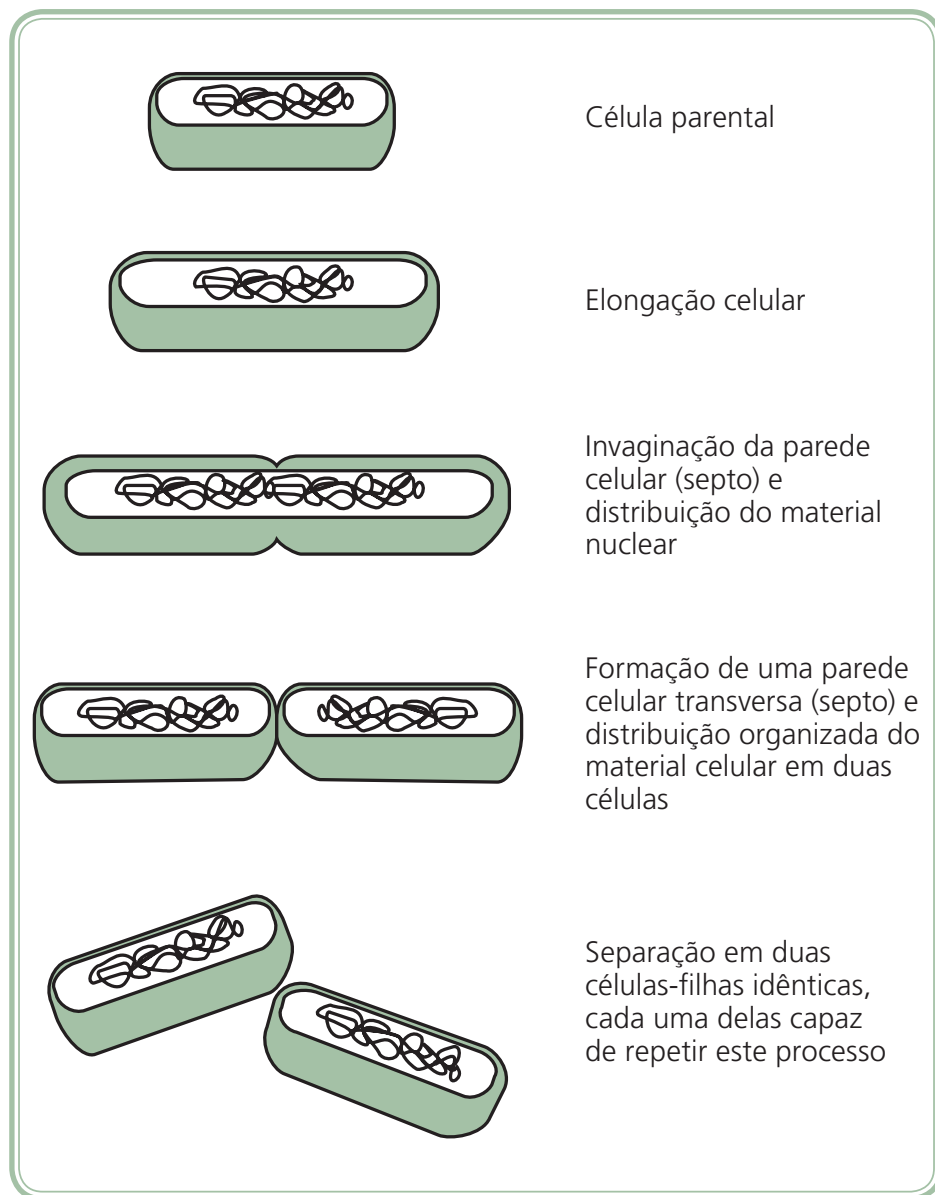
### 3.5.3.3 Plasmídeos

São moléculas de DNA de dupla fita pequenas e circulares. Não estão conectados ao cromossomo bacteriano principal e replicam-se, independentemente, do DNA cromossômico. Podem ser ganhos ou perdidos sem lesar a célula e transferidos de uma bactéria para outra. Podem transportar genes para atividades como a resistência aos antibióticos, tolerância aos metais tóxicos, produção de toxinas e síntese de enzimas. Quanto mais alto o peso molecular maior será sua importância. Cada plasmídeo tem uma função própria, os que não têm função são crípticos e apresentam baixo peso molecular.

### 3.5.4 Reprodução

Quando os microrganismos estão em um meio apropriado (alimentos, meios de cultura, tecidos de animais ou plantas) e em condições ótimas para o crescimento, um grande aumento no número de células ocorre em um período de tempo relativamente curto. A reprodução das bactérias (veja a Figura 5) se dá, principalmente, de forma assexuada, em que novas células iguais a que deu origem são produzidas. As bactérias se reproduzem assexuadamente por fissão binária, na qual uma única célula parental simplesmente se divide em duas células filhas idênticas. Anteriormente à divisão celular, os conteúdos celulares se duplicam e o núcleo é replicado. O tempo de geração, ou seja, o intervalo de tempo requerido para que cada microrganismo se divida ou para que a população de uma cultura duplique em número é diferente para cada espécie e é fortemente influenciado pela composição nutricional do meio em que o microrganismo se encontra.

Observe a figura abaixo:



**Figura 3.5: Reprodução dos procariotos**

Alguns procariotos se reproduzem assexuadamente por modelos de divisão celular diferentes da fissão binária, tais como:

- **Brotamento** – a célula-mãe expela, de forma lenta, uma célula-filha que brota de maneira a originar uma nova bactéria. As células-filhas podem se manter agregadas às células-mães, após sucessivos brotamentos forma-se uma colônia.



- **Fragmentação** – formação de filamentos, cada um deles inicia o crescimento de uma nova célula. Ex. *Nocardia sp*
- **Formação de esporos** – produção de cadeias de esporos externos.

### 3.5.5 Divisão das bactérias

As bactérias são divididas em dois grandes grupos: as **eubactérias** e as **arqueobactérias**. As eubactérias apresentam composição da parede celular diferente das arqueobactérias, frequentemente aparecem aos pares, em cadeias, formando tétrades ou agrupadas. Algumas apresentam flagelos, favorecendo seu deslocamento rapidamente em líquidos. São de grande importância na natureza e na indústria, sendo essenciais na reciclagem de lixo orgânico e na produção de antibiótico como a streptomicina. As infecções causadas pelas eubactérias incluem as streptocócica de garganta, tétano, peste, cólera e tuberculose.

As arqueobactérias assemelham-se as eubactérias quando observadas por meio de um microscópio, mas existem diferenças importantes quanto a sua composição química, à atividade e ao meio ambiente em que se desenvolvem tais como em elevada concentração de salina ou acidez elevada e altas temperaturas a exemplo de piscinas térmicas e lagoas salinas.

## Resumo

Nesta aula, você aprendeu sobre as estruturas bacterianas relacionadas à parede e membrana celular, bem como as ligadas à área nuclear. Aprendeu que as bactérias são divididas em eubactérias e arqueobactérias.

## Atividades de aprendizagem

1. Que são bactérias?
2. Quais as características gerais das bactérias?
3. Qual o tamanho aproximado das bactérias?
4. De que depende o tamanho das bactérias?

5. Quais as formas das bactérias?
6. Como se organizam espacialmente os cocos? O que é pleomorfismo e quando acontece?
7. Quais as estruturas ligadas à parede celular bacteriana?
8. Quais as funções da parede celular?
9. Onde se localiza a membrana celular?
10. Quais as funções da membrana celular?
11. Onde se localiza o glicocálice?
12. De que é composto o glicocálice?
13. Qual a função da cápsula?
14. De que é composta a cápsula ou glicocálice?
15. O que é flagelo e cílios?
16. Quais são os arranjos de flagelo?
17. O que são fímbrias e pili?
18. Qual o singular de pili?
19. Qual a função das fímbrias e pili?
20. Onde se localiza a informação genética da célula bacteriana?
21. Onde ocorre a síntese proteica?
22. O que são esporos bacterianos?
23. Qual a função dos esporos?
24. O que são plasmídeos?

25. Todas as bactérias possuem plamídeos?
26. Qual o principal forma de multiplicação bacteriana?
27. Em que condições ocorre a multiplicação bacteriana?
28. O que difere as eubactérias das archeabactérias?

# Aula 4 – Fungos e vírus

## Objetivos da aula

Ao final da aula você deverá ter condições de:

Identificar e listar as características das células dos fungos.

Diferenciar os fungos unicelulares dos multicelulares.

Compreender a diferença entre um fungo perfeito e um fungo imperfeito.

Identificar os fungos quanto a sua forma de vida e como eles obtêm alimentos.

Listar as características e estruturas morfológicas dos fungos.

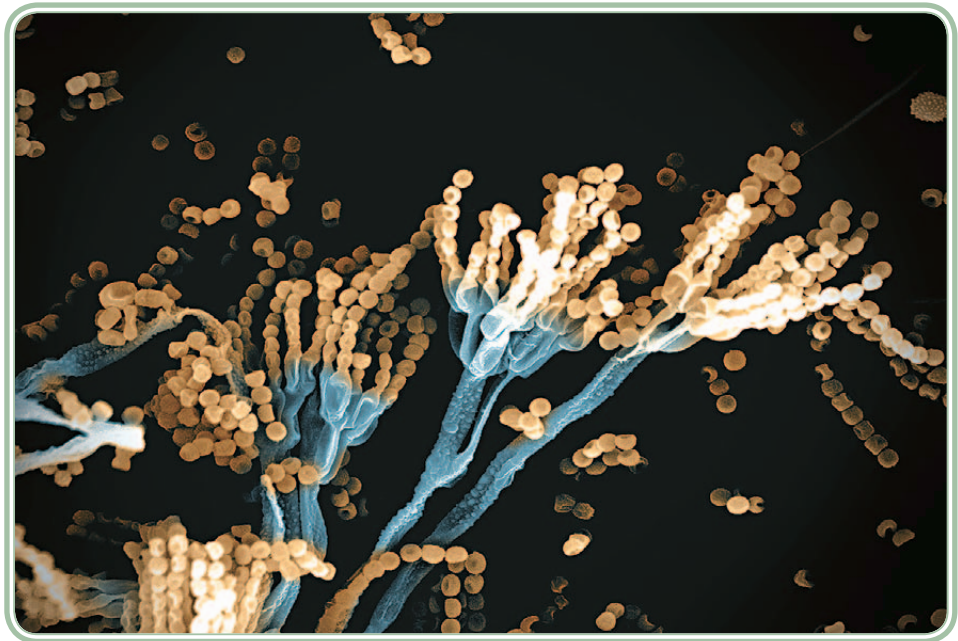
## 4.1 Fungos e vírus

Os fungos são organismos eucarióticos, heterotróficos e, geralmente, multicelulares. São encontrados na superfície de alimentos, formando colônias algodonosas e coloridas.

Os mais conhecidos são os bolores, os cogumelos, as orelhas-de-pau e as leveduras (fermentos). Os fungos, em sua maioria, são constituídos por filamentos microscópicos e ramificados, as hifas. O conjunto de hifas de um fungo constitui o micélio. Os fungos têm nutrição heterotrófica porque necessitam de matéria orgânica, provenientes dos alimentos, para obtenção de seus nutrientes.

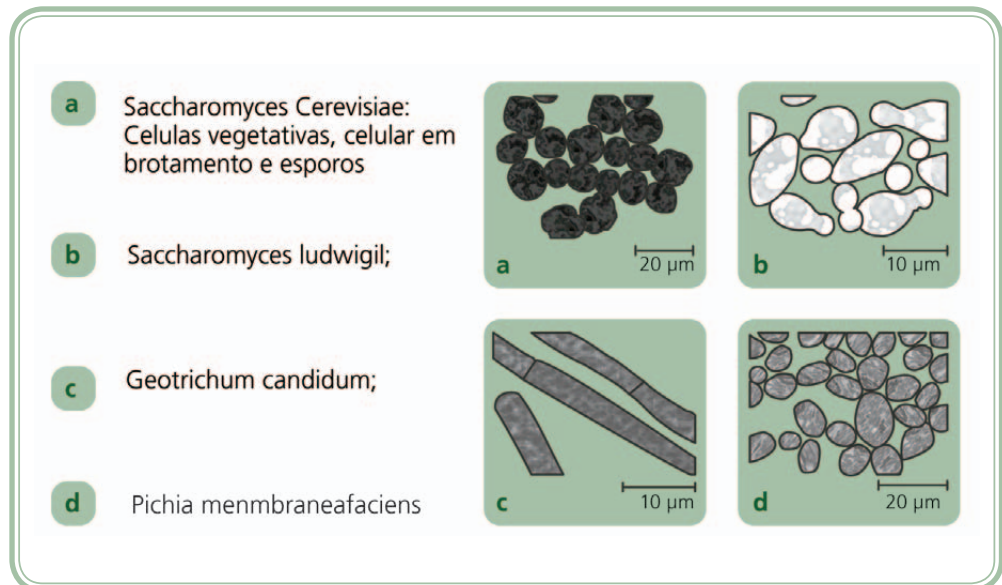
A maioria vive no solo, alimentando-se de cadáveres de animais, de plantas e de outros seres vivos. Esse modo de vida dos fungos causa o apodrecimento de diversos materiais e por isso são chamados de saprofágicos. Certas espécies de fungos são parasitas e outras vivem em associações harmoniosas com outros organismos, trocando benefícios.

Segue algumas figuras de fungos como exemplos para visualização das diferentes formas.



**Figura 4.1: *Penicillium***

Fonte: Adaptado de: <http://www.schimmel-schimmelpilze.de/images/penicillium-rem-2690.jpg>



**Figura 4.2: Exemplos de fungos**

A *Sacharomyces Cerevisiae* é usada como fermento biológico na fabricação do pão, cerveja, vinho e da champanha.

## 4.2 Características dos fungos em relação às bactérias

Os fungos são geralmente adaptados a ambientes que poderiam ser hostis às bactérias. São encontrados na superfície de alimentos formando colônias algodonosas e coloridas.

Todavia, diferem das bactérias em determinadas necessidades ambientais e nas características estruturais e nutricionais apresentadas a seguir:

- Apresentam a parede celular com presença de substâncias quitinosas e células com organelas membranosas (mitocôndrias, complexo de golgi, vacúolo).
- Não possuem células móveis em todos os estágios do ciclo de vida.
- Reserva de energia na forma de glicogênio.
- Os fungos normalmente crescem melhores em ambientes em que o pH é muito ácido, o qual são desfavoráveis para o crescimento da maioria das bactérias comuns.
- Quase todos possuem forma aeróbica. Algumas leveduras são anaeróbicas facultativas.
- A maioria dos fungos é mais resistente à pressão osmótica que as bactérias; muitos, conseqüentemente, podem crescer em altas concentrações de açúcar ou sal.
- Podem crescer sobre substâncias com baixo grau de umidade, geralmente tão baixo que impede o crescimento de bactérias.
- Necessitam de menos nitrogênio para um crescimento equivalente ao das bactérias.
- São capazes de metabolizar a carboidratos complexos, tais como lignina (madeira), que as bactérias não podem utilizar como nutriente.

As características citadas, anteriormente, nos mostram que os fungos se desenvolvem em substratos diversos como paredes de banheiro, couro de sapatos e jornais velhos.

## 4.3 Modo de vida dos fungos de acordo com o tipo de alimentação

Os fungos apresentam grande variedade em relação aos modos de vida, mas sempre obtêm alimento por absorção de nutrientes do meio.

- **Decompositores** – os fungos decompositores obtêm seus alimentos pela decomposição de matéria orgânica. Eles podem atuar como saprófitos, degradando a matéria orgânica presente no corpo de organismos mortos.
- **Parasitas** – são parasitas os fungos que se alimentam de substâncias retiradas do corpo de organismos vivos, nos quais se instalam, prejudicando-os. Esses fungos provocam doenças em plantas e em animais, inclusive no ser humano.
- **Mutualísticos** – certas espécies de fungos estabelecem relações mutualísticas com outros organismos, nos quais ambos se beneficiam. Dentre os fungos mutualísticos, alguns vivem associados a raízes de plantas formando as micorrizas (raízes que contêm fungos). Nesses casos, elas absorvem água do solo, degradam a matéria orgânica e absorvem os nutrientes liberados, transferindo parte deles para a planta, que cresce mais sadia. Esta, por sua vez, cede ao fungo certos açúcares e aminoácidos de que ele necessita como alimento.
- **Predadores** – entre os fungos mais especializados estão os predadores, que desenvolvem vários mecanismos para capturar pequenos organismos, especialmente nematódeos, utilizando-os como alimento.

## 4.4 Tipos de reprodução

### 4.4.1 Assexuada

- Ocorre pela fragmentação do micélio, brotamento, cissiparidade ou produção de esporos assexuais.
- Não ocorre fusão de núcleos, apenas mitoses sucessivas.
- Mitose - divisão celular na qual os cromossomos das células são duplicados e as células formadas apresentam a mesma constituição genética.
- Este tipo de reprodução corresponde à fase imperfeita, também chamada de anamórfica dos fungos.

### 4.4.2 Sexuada

- Aumenta a variabilidade genética, pois os indivíduos formados podem apresentar constituição genética diferente.
- Corresponde à fase perfeita ou teleomórfica dos fungos.
- Envolve a ocorrência de três processos:

#### **Plasmogamia**

Fusão de protoplasmas, resultante da anastomose de duas células



#### **Cariogamia**

Fusão de dois núcleos haploides ( $n$ ) e compatíveis formando um núcleo diploide ( $2n$ )



#### **Meiose**

Núcleo diploide ( $2n$ ) sofre divisão reducional após a cariogamia para formar dois núcleos haploides ( $n$ )



## 4.5 Diversidade morfológica dos fungos

### 4.5.1 Fungos unicelulares (leveduras)

- Células ovais ou esféricas – 1 a 10 $\mu$ m.
- Reprodução por brotamento ou cissiparidade.
- Crescimento geralmente rápido formando colônias cremosas ou membranosas e ausência de hifas aéreas.
- Em determinadas condições, células em reprodução permanecem ligadas à célula-mãe, formando pseudo-hifas.

### 4.5.2 Fungos filamentosos (bolor)

- Multicelulares formados por estruturas tubulares (hifas – 2 a 10 $\mu$ m) o conjunto dessas estruturas constitui o micélio.
- As hifas podem ser contínuas (cenocíticas ou asseptadas) ou apresentar divisões transversais (hifas septadas).

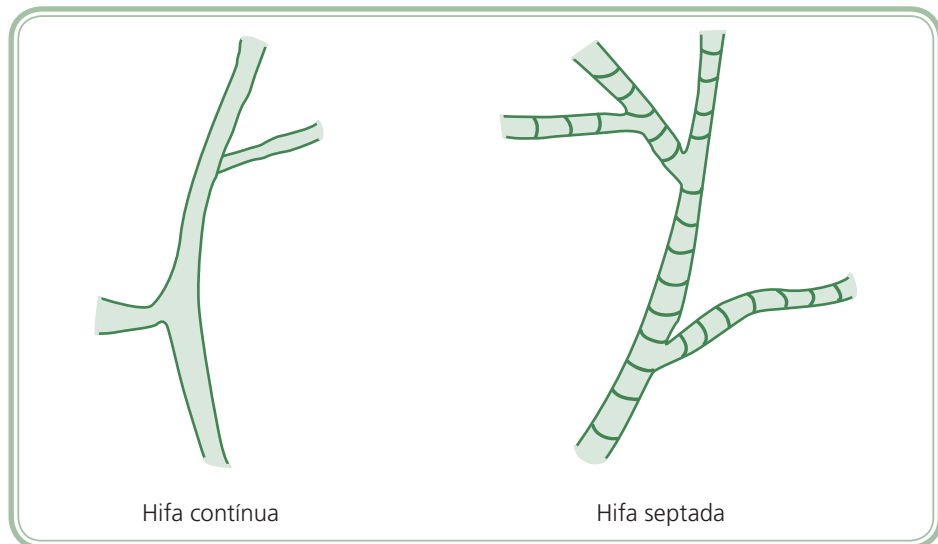


Figura 4.3: Hifa contínua e hifa septada

### 4.5.3 Fungos dimórficos

- Apresentam em determinadas condições a fase leveduriforme (37°C, alta tensão de CO<sub>2</sub>) e em outras a fase filamentosa.
- A fase de levedura se reproduz por brotamento, enquanto que a fase filamentosa produz hifas aéreas e vegetativas.

- O dimorfismo nos fungos depende da temperatura de crescimento. Crescido a 37°C, o fungo apresenta forma de levedura. Crescido a 25°C, ele apresenta a forma filamentosa.

Observe em alimentos com colônias de fungos (pães, extrato de tomate, tomates, queijo e outros), as hifas que em conjunto formam o micélio, e as diversas colorações.



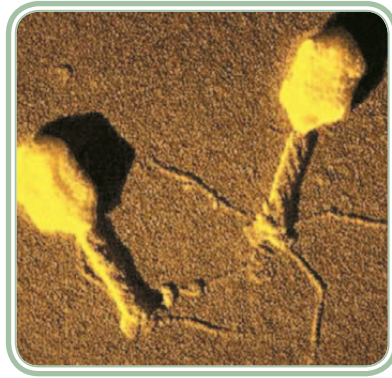
## 4.6 Vírus

Os vírus não são considerados organismos vivos porque são inertes fora das células hospedeiras. Diferem dos demais seres vivos pela ausência de organização celular, por não possuírem metabolismo próprio e por necessitarem de uma célula hospedeira. No entanto, quando penetram em uma célula hospedeira, o ácido nucleico viral torna-se ativo ocorrendo a multiplicação.

### 4.6.1 Características dos vírus

- Possuem um único tipo de ácido nucleico, DNA ou RNA.
- Possuem uma cobertura proteica, envolvendo o ácido nucleico.
- Multiplicam-se dentro de células vivas, usando a maquinaria de síntese das células.
- Induzem a síntese de estruturas especializadas, capazes de transferir o ácido nucleico viral para outras células.
- Parasitas obrigatórios apresentando incapacidade de crescer e se dividir autonomamente.
- Replicação somente a partir de seu próprio material genético.

A Figura 4.4 abaixo, obtida a partir de microscopia eletrônica, representa um fago, ou seja, vírus que ataca bactérias. Na cabeça, encontra-se o material genético (DNA ou RNA), a cauda é uma estrutura de aderência a célula hospedeira.



**Figura 4.4:** Representação do fago

## 4.6.2 Estrutura viral

Um vírion é uma partícula viral completa, composta por um meio ácido nucleico, envolto por uma cobertura proteica que protege do meio ambiente e serve como veículo na transmissão de um hospedeiro para o outro. Os vírus são classificados de acordo com as diferenças na estrutura desses envoltórios.

### 4.6.2.1 Capsídeo e envelope

O ácido nucleico dos vírus é envolvido por uma cobertura proteica chamada de capsídeo. A estrutura deste é denominada pelo genoma viral e constitui a maior parte da massa viral. O capsídeo é formado por subunidades proteicas chamadas de capsômeros. Em alguns vírus, o capsídeo é coberto por um envelope que, consiste de uma combinação de lipídios, proteínas e carboidratos. Alguns vírus animais saem do hospedeiro por um processo de extrusão, no qual a partícula é envolvida por uma camada de membrana plasmática celular que vai constituir o envelope viral. Os vírus cujos capsídeos não estão cobertos por um envelope são conhecidos como vírus não-envelopados.

## 4.6.3 Classificação morfológica

Podem ser classificados com base na arquitetura do capsídeo.

- **Vírus helicoidais** – O genoma viral está no interior de um capsídeo cilíndrico oco com estrutura helicoidal.
- **Vírus poliédricos** – O capsídeo da maioria deles tem a forma de um icosaedro. São exemplos o adenovírus e o poliovírus.
- **Vírus envelopados** – o capsídeo é coberto por um envelope.

- **Vírus complexos** – alguns vírus, especialmente os bacterianos, possuem estruturas complicadas e por isso são denominados complexos. Um bacteriófago ou gago (vírus que atacam bactérias) é um exemplo de vírus complexo. Um fago é capaz de aderir à parede celular de uma bactéria hospedeira, perfurando-a e nela injetando seu DNA. O capsídeo proteico do fago, formado por uma “cabeça” e uma “cauda”, permanece fora da bactéria.

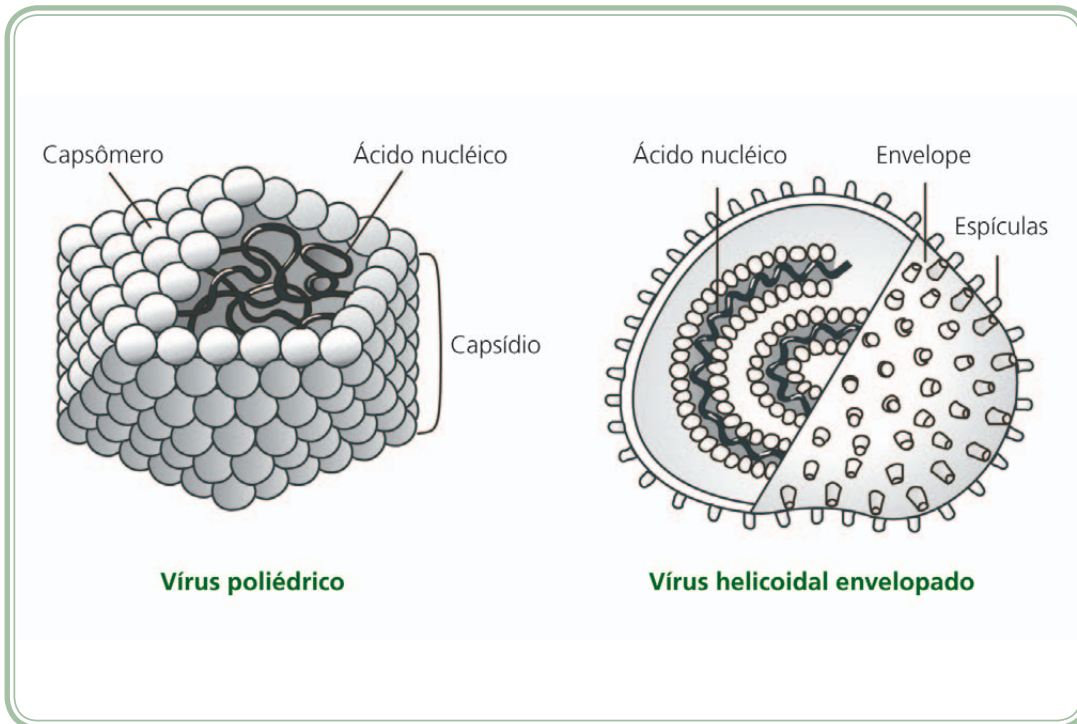
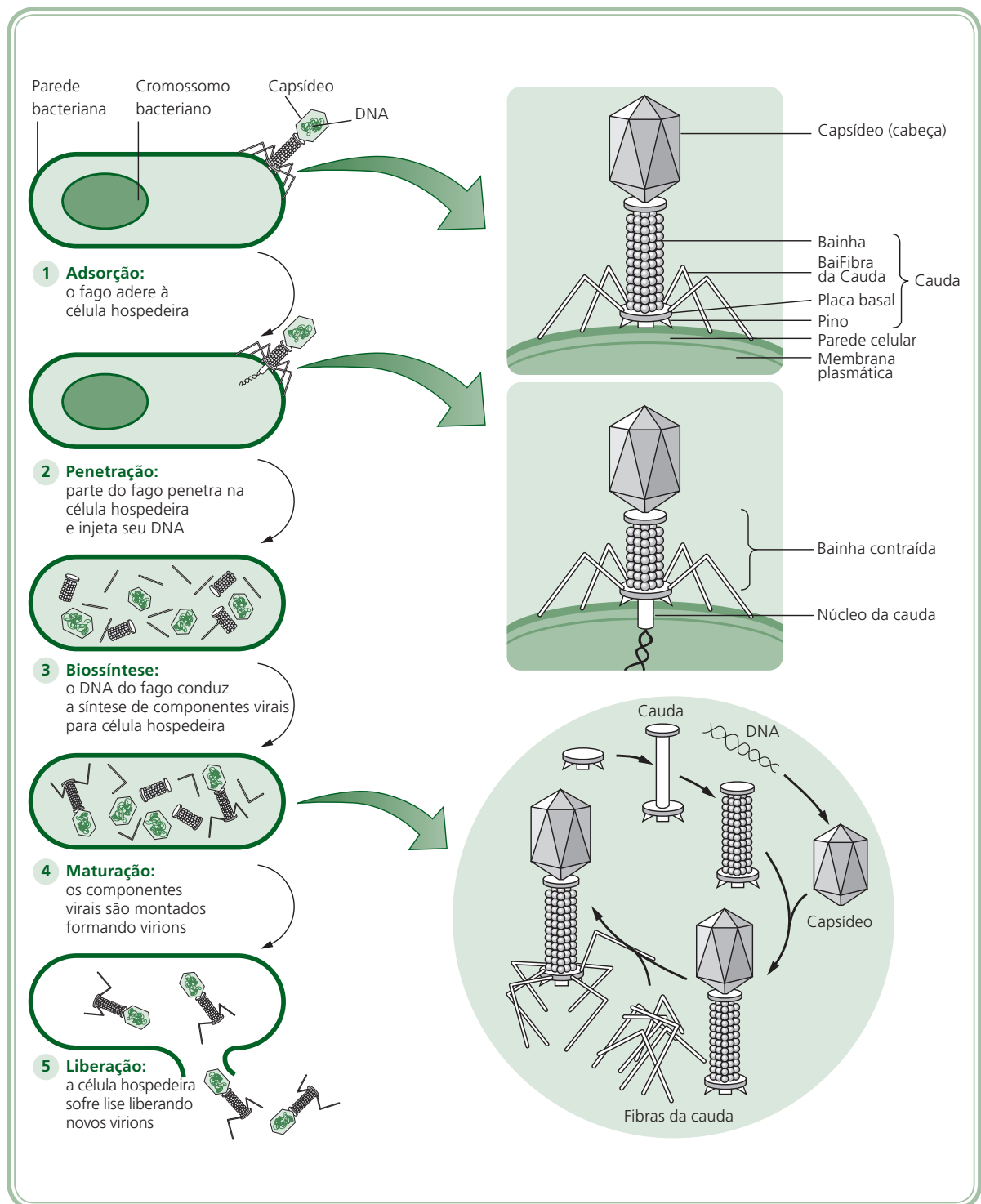


Figura 4.5: Vírus poliédrico e vírus helicoidal envelopado

#### 4.6.4 Multiplicação de bacteriófagos

O ciclo de vida viral mais conhecido é o dos bacteriófagos, que podem se multiplicar por dois mecanismos alternativos: o ciclo lítico (termina com a morte da célula hospedeira) ou ciclo lisogênico (a célula permanece viva).

Bacteriófagos são vírus que parasitam células bacterianas.



**Figura 4.6 – Ciclo do bacteriófago**

Fonte: Tortora, Funke e Case (2000).

## Resumo

Nesta aula, você estudou as principais características morfológicas, reprodutivas e nutricionais dos fungos e vírus.

## Atividades de aprendizagem

1. Com relação à célula, como são os fungos?
2. O que são hifas?
3. Como se encontram os fungos na natureza?
4. Diferencie as características dos fungos em relação às bactérias?
5. Que são fungos decompositores, parasitas, mutualísticos e predadores?
6. Que são fungos imperfeitos?
7. Que são fungos perfeitos?
8. Por que a velocidade de crescimento dos fungos é menor que das bactérias? Que são leveduras?
9. Quem são os fungos filamentosos?
10. Que são fungos domórficos?
11. Porque os fungos não são considerados organismos vivos?
12. Que são bacteriófagos?



# Aula 5 – Curva de crescimento dos microrganismos

## Objetivos da aulas

Ao final da aula você deverá ter condições de:

Identificar as fases da curva de crescimento dos microrganismos e o que caracteriza o início e o fim de cada fase.

Conhecer os tipos de associações e os fatores intrínsecos e extrínsecos que influenciam na velocidade de crescimento dos microrganismos.

## 5.1 Esquema da progressão

### 5.1.1 Curva de crescimento

O crescimento dos microrganismos descreve uma curva caracterizada por quatro fases: latência (lag), exponencial (log), estacionária e morte ou destruição.

As bactérias se reproduzem via progressão geométrica ( $n^2$ ), por isso a expressão é representada em logaritmo (log) do número de microrganismo pelo tempo gasto para a multiplicação, isto é crescimento exponencial por ter uma célula originando 2 que por sua vez originam 4 e, assim, sucessivamente.

Log. do nº de microrganismos por hora em 1 ml

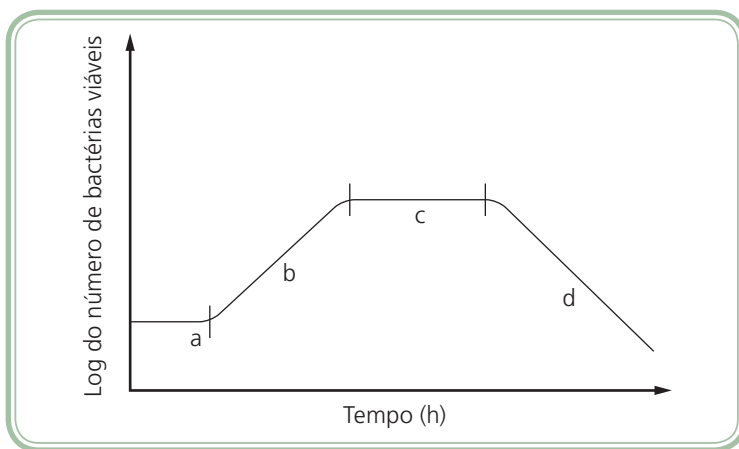


Figura 5.1 – Gráfico da curva de crescimento



As bactérias se reproduzem via progressão geométrica ( $2^n$ )

O tempo de geração das bactérias ocorre num intervalo entre 7-30 minutos.

AB = fase de latência

BC = fase logarítmica

CD = fase estacionária

DE = fase de destruição ou morte

- **Fase de latência (lag)**

É caracterizada pela adaptação da célula do microrganismo ao novo meio, quer seja através da inoculação ou contaminação. Esta fase é influenciada pela idade da cultura, quantidade de inóculo bacteriano, tipo de microrganismo, características do alimento e meio ambiente (pH, oxigênio, composição do meio, substâncias inibidoras, etc.)

**Na contaminação os microrganismos** chegam ao meio espontaneamente.

**Na inoculação os microrganismos** são adicionados ao meio intencionalmente.

Quando os microrganismos encontram as condições ideais para a sua multiplicação, dá-se o fim da fase de latência e inicia-se a fase logarítmica (log), também conhecida como fase exponencial, por se tratar de um crescimento em progressão geométrica. Uma célula bacteriana se divide e dá origem a duas outras e assim sucessivamente ( $2^n$ ).

Se desejarmos produzir alimentos a partir de microrganismos, devemos então oferecer todas as condições ideais para que estes passem o menor tempo possível na fase de latência (lag), entrando imediatamente na fase logarítmica (log). Ao contrário, se desejarmos conservar o alimento, devemos evitar a multiplicação, dando condições desfavoráveis a multiplicação.

- **Fase logarítmica (log)** – é caracterizada pelo crescimento acelerado e a predominância de células jovens que apresentam seu máximo potencial metabólico. Com o aumento populacional poderá haver esgotamento de nutrientes e/ou alta concentração de metabólitos tóxicos que limitará a multiplicação, pondo fim a fase de crescimento exponencial, ou seja, a fase logarítmica.

É importante diferenciar metabólitos tóxicos de toxinas. Os metabólitos tóxicos são produtos do metabolismo das bactérias.



- **Fase estacionária**

É caracterizada por células velhas, mais resistentes a condições adversas, podendo em alguns casos se esporular. Nessa fase, o número de células viáveis é igual ao número de células inviáveis.

- **Fase de destruição**

Com o aumento da adversidade do meio, essas células morrem em ritmo acelerado (fase de declínio, destruição ou morte), dando fim ao ciclo microbiano.

### 5.1.2 Fatores que regulam a curva de crescimento dos microrganismos

A curva de crescimento é regulada através das associações em que vivem os microrganismos tais como simbiose, antagonismo, sinergismo e metabiose; dos fatores inerentes ao meio de crescimento dos microrganismos (intrínsecos) e dos fatores do ambiente externo ao meio de crescimento dos microrganismos (extrínsecos).

A embalagem é uma barreira entre os fatores intrínsecos e extrínsecos.

### 5.1.3 Associação

- **Simbiose:** os microrganismos convivem harmonicamente. Em condições ideais para o crescimento de todos eles, há sempre uma predominância das bactérias sobre as leveduras e estas sobre os fungos.
- **Antagonismo:** a presença de um determinado microrganismo inviabiliza a presença de outro.
- **Sinergismo:** dois ou mais microrganismos em convívio simultâneo, apresentam suas funções metabólicas potencializadas.
- **Metabiose:** ocorre uma predominância de um grupo de microrganismos que vão sendo, sucessivamente, substituídos em consequência da modificação progressiva do meio, ou seja, os metabólitos produzidos tornam-se tóxicos para um grupo, sendo ideal para outro e, assim sucessivamente, até o esgotamento total de nutrientes que inviabilize a vida.

### 5.1.4 Fatores intrínsecos

O conhecimento dos fatores intrínsecos que agem sobre determinado alimento, permite prever sua “vida de prateleira”, sua estabilidade microbiológica, bem como conhecer a capacidade de crescimento e/ou a produção de toxinas dos microrganismos patogênicos eventualmente presentes. No entanto, o conhecimento de cada uma dessas características isoladamente é pouco útil devido aos efeitos interativos entre elas. Esses efeitos podem ser não apenas aditivos como também sinérgicos ou mesmo antagonicos.

São considerados fatores intrínsecos a atividade de água (Aa), acidez (pH), oxigênio, composição química, a presença de fatores antimicrobianos naturais e as interações entre os microrganismos presentes nos alimentos. Entre os fatores extrínsecos, os mais importantes são a umidade e a temperatura ambiental e também a composição da atmosfera que envolve o ambiente.

## 5.2 Atividade da água

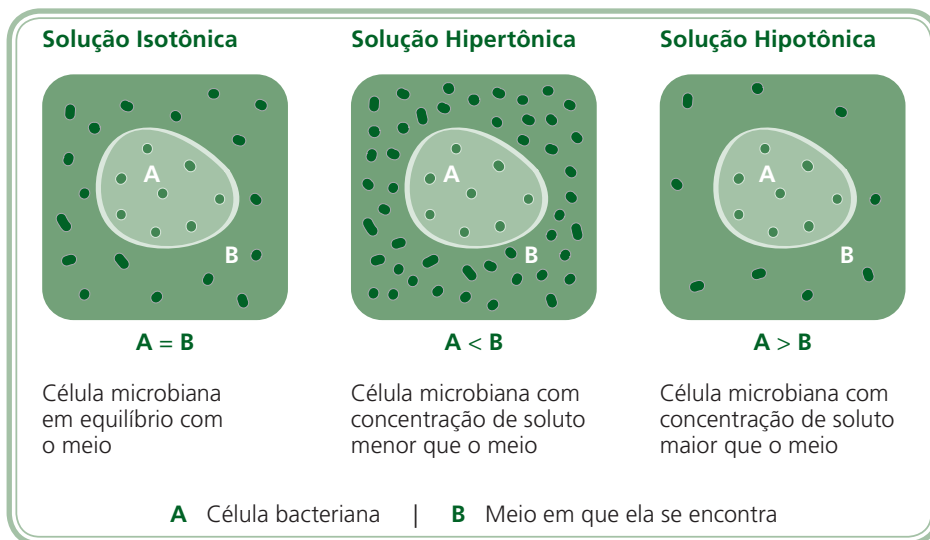


Procure verificar bem a diferença entre atividade de água e umidade do alimento. Esse conhecimento será muito útil na tecnologia de alimentos.

A pressão osmótica é a força com a qual a água se move através da membrana citoplasmática de uma solução, contendo uma baixa concentração de substâncias dissolvidas (solutos) para outra contendo alta concentração de solutos. Quando as células microbianas estão em um meio aquoso não devem existir grandes diferenças na concentração dentro e fora da célula, ou as células poderiam desidratar-se ou romper-se.

Em uma solução isotônica o fluxo de água para dentro e para fora da célula está em equilíbrio e a célula cresce normalmente. Entretanto, quando o meio externo é hipertônico, com uma concentração de soluto mais alta que no citoplasma da célula, a célula perde água e seu crescimento é inibido.

Peixes salgados e frutas em calda são conservados pela retirada osmótica da água de qualquer célula microbiana que estejam presentes. Ao contrário, quando a solução externa é muito hipotônica, com uma concentração de solutos muito mais baixa do que na célula, a água flui para dentro da célula e a rompe. (Figura 5.2 )



**Figura 5.2: Efeito da pressão osmótica sobre a célula microbiana**

A água de um alimento, conforme sua situação e disponibilidade, é um dos fatores mais importantes no crescimento microbiano. A água pode ser considerada como um composto químico necessário para o crescimento e como participante da estrutura física do alimento. Os microrganismos (bactérias, leveduras, mofos) necessitam de umidade para se desenvolverem, tendo o crescimento máximo quando dispõem de água suficiente. A água deve apresentar-se em condições de ser utilizada pelos micróbios, isto é, não combinada de forma alguma, como ocorre em certos solutos e colóides hidrofílicos. Água ligada a macromoléculas por forças físicas não está livre para agir como solvente ou para participar de reações químicas e, portanto, não pode ser aproveitada pelos microrganismos.

Certos solutos, como sal e o açúcar, originam um aumento de pressão osmótica que tende a diminuir a quantidade de água disponível ao microrganismo. Em casos extremos, poderá ocorrer a plasmólise por causa do movimento da água no interior da célula para o meio exterior, com a finalidade de tentar igualar as concentrações.

A umidade relativa do ar também tem importância. Caso ela seja menor do que a umidade do alimento, este perderá umidade pela sua superfície. Quando a umidade relativa do ar for maior haverá adsorção de umidade pelo alimento.

Dentro do microambiente do alimento, a disponibilidade de água é determinada por sua pressão de vapor relativa ou atividade aquosa mais do que por sua concentração. É importante, portanto, o estado físico-químico no qual a água

se apresenta (combinada, livre, na forma cristalina, etc.) e não sua quantidade absoluta.

Face ao exposto podemos definir atividade de água de um alimento ou de uma solução qualquer como sendo a relação existente entre a pressão parcial de vapor do alimento (P), e a pressão de vapor da água pura (P<sub>o</sub>), a uma dada temperatura. Os valores de atividade de água variam de 0 a 1.

$$Aa = P/P_o$$

Podemos reduzir a atividade de água de um alimento por evaporação, adição de soluto (sal ou açúcar) ou congelamento.

A adição de sais, de açúcar e de outras substâncias provoca a redução da atividade de água de um alimento por reduzir a pressão de vapor de P (pressão de vapor de água de alimento), sendo essa redução variável em função da natureza da(s) substância(s) adicionada(s), da quantidade adicionada e da temperatura.

Na Tabela 1, pode ser vista a relação existente entre o valor de Aa de uma solução e a concentração salina dessa solução. Assim, uma solução de NaCl a 22% (p/v) tem Aa de 0,86, enquanto uma solução saturada de NaCl tem Aa de 0,72. Portanto, a adição de sal a um alimento qualquer reduz o valor de Aa. A adição de outros compostos como açúcar e glicerol também causa alteração no valor da Aa. A atividade de água de um alimento pode também ser reduzida através da remoção de água (desidratação) e do congelamento.

**Tabela 5.1: Relação entre a atividade de água e a concentração de NaCl**

Aa	Molar	%(p/v)
0,995	0,15	0,9
0,99	0,30	1,7
0,98	0,61	3,5
0,96	1,20	7
0,94	1,77	10
0,92	2,31	13
0,90	2,83	16
0,88	3,33	19
0,86	3,81	22

Fonte: Jay (2005).

Verifica-se que, na maioria dos alimentos frescos, a Aa é superior a 0,95. Os microrganismos têm um valor mínimo, um valor máximo e um valor ótimo de Aa para sua multiplicação. Considerando que a Aa da água pura é 1,00 e que microrganismos não se multiplicam em água pura, o limite máximo para o crescimento microbiano é ligeiramente menor que 1,00. O comportamento dos microrganismos em relação à Aa mínima ótima é bastante variável.

Microrganismos osmofílicos são capazes de se multiplicar em altas concentrações de açúcar e os osmodúricos são capazes de suportar altas concentrações (mas não se multiplicam). Já os halofílicos e halodúricos são capazes de se multiplicar ou de suportar altas concentrações de NaCl, respectivamente. Em geral, bactérias requerem Aa mais alta que os fungos. As bactérias Gram-negativas são mais existentes que as Gram-positivas em relação à Aa necessária. A maioria das bactérias deteriorantes não se multiplica em Aa inferior a 0,91, enquanto que fungos deteriorantes podem fazê-lo em Aa de até 0,80. Com relação às bactérias causadoras de toxinfecções alimentares, o *Staphylococcus aureus* pode tolerar Aa até 0,86 para sua multiplicação, porém nessa concentração não produz toxinas, enquanto, *Clostridium perfringens* não se multiplica em alimentos com Aa inferior a 0,94.

Os valores de Aa mais baixos relatados na literatura, relacionados com multiplicação microbiana, são de 0,75 para bactérias halofílicas, 0,65 para bolores xerofílicos e 0,60 para leveduras osmofílicas. Dessa forma, considera-se o valor de 0,60 como o valor de Aa limitante para a multiplicação de qualquer microrganismo.

**Tabela 5.2: Valores de Aa mínima para a multiplicação de microrganismos importantes em alimentos**

Organismos	Aa
Grupos	
Bactérias deteriorantes	0,9
Leveduras deteriorantes	0,88
Bolores deteriorantes	0,80
Bactérias halofílicas	0,75
Bolores xerofílicos	0,65
Leveduras osmofílicas	0,61

Fonte: Jay (2005).

A atividade de água, temperatura e disponibilidade de nutrientes são interdependentes. Assim, a qualquer temperatura, a capacidade de microrganismos multiplicarem-se abaixa quando a Aa abaixa. Quanto mais próxima da temperatura ótima

para multiplicação, mais larga é a faixa de Aa, em que o crescimento bacteriano é possível. A presença de nutrientes também é importante, pois amplia a faixa de Aa em que os microrganismos podem multiplicar-se.

A Aa limitante para o crescimento de determinado microrganismo depende ainda de outros fatores intrínsecos que podem agir simultaneamente, como o pH do meio, o potencial do óxido-redução e a presença de substâncias antimicrobianas naturais ou intencionalmente adicionadas, entre outros. De modo geral, quando esses fatores provocam um afastamento das condições ótimas para a multiplicação de determinado microrganismo, mais alto será o valor de Aa necessário.



Procure verificar bem a diferença entre atividade de água e umidade do alimento. Esse conhecimento será muito útil na tecnologia de alimentos.

O efeito da diminuição de Aa a um valor inferior ao considerado ótimo para um microrganismo, acarretará o aumento da fase lag do crescimento microbiano e a diminuição da velocidade de multiplicação e do tamanho da população microbiana final. Esse efeito é devido às alterações em todas as atividades metabólicas, uma vez que todas as reações químicas das células são dependentes da água. Alguns microrganismos acumulam substâncias dentro da célula a fim de igualar seu gradiente de concentração com o meio, a exemplo da prolina e outros aminoácidos.

Leveduras osmofílicas acumulam alcoóis poli-hídricos, como glicerol, para efetuar a regulação da pressão osmótica (osmorreguladores). Bactérias halofílicas fazem a regulação através da capacidade de acumular KCl.



O *Clostridium Botullinum* é uma bactéria patogênica produtora do botulismo, que na maioria das vezes leva a morte.

Fungos preferem pH muito ácido para multiplicação, já as bactérias patogênicas preferem alimentos pouco ácidos. É importante ressaltar que essas soluções são adicionadas em pequenas quantidades nos alimentos, não sendo capazes de atuarem como aditivos conservadores.



De acordo com os conhecimentos obtidos, descreva como você poderá reduzir a atividade de água dos alimentos através de exemplos, justificando suas respostas.

## 5.3 Acidez (pH)

É um fator de grande importância na limitação dos tipos de microrganismos capaz de se desenvolver no alimento. Quanto menor o pH, mais ácida é a solução e quanto maior o pH, mais básica é a solução. Se o valor do pH de uma solução está abaixo de 7, a solução é ácida; se o pH está acima de 7, a solução é básica (alcalina). Em função desse parâmetro, os alimentos podem ser classificados em:

- a) Alimentos pouco ácidos: os que possuem pH superior a 4,5. Ex. leite, carnes, pescados, alguns vegetais, etc.
- b) Alimentos ácidos: os que possuem pH entre 4,5 a 4,0. Ex. Beterraba, tomate, berinjela, ameixa, etc.
- c) Alimentos muito ácidos: os que possuem pH inferior a 4,0. Ex. frutas cítricas, refrigerantes, maçãs, azeitonas, etc.

O pH 4,5 é muito importante em microbiologia de alimentos, pois assinala o nível abaixo do qual não há desenvolvimento de *Clostridium botulinum*, bem como, de modo geral, das bactérias patogênicas.



A microflora de alimentos pouco ácidos ( $\text{pH} > 4,5$ ) é muito variada, havendo condições para o desenvolvimento da maioria das bactérias, fungos filamentosos e leveduras. Em alimentos ácidos ( $4,0 > \text{pH} < 4,5$ ), as bactérias que podem se desenvolver são as lácticas e algumas esporuladas dos gêneros *Bacillus* e *Clostridium*. Nesta faixa, os fungos filamentosos e as leveduras encontram boas condições para seu desenvolvimento. Finalmente, nos alimentos muito ácidos ( $\text{pH} < 4,0$ ) podem se desenvolver apenas os fungos filamentosos e as leveduras e por sua vez a bactéria láctica e acética.

Acredita-se que o pH adverso afeta, principalmente, a respiração dos microrganismos, por ação em suas enzimas e no transporte de nutrientes para dentro da célula microbiana. Tal como acontece com a Aa, também o pH desfavorável provoca um aumento na fase logarítmica (lag) da multiplicação microbiana.

Quando os microrganismos estão em pH diferente do neutro, sua capacidade de multiplicação depende de sua capacidade de modificar o pH adverso. Quando em pH ácido, os aminoácido-descarboxilases de muitos microrganismos são ativadas (pH próximo de 4,0), resultando na produção de aminas, que aumentam o pH. Por outro lado, em pH alcalino, ocorre a ativação de aminoácido-desaminases (pH próximo de 8,0), que produzem ácidos orgânicos, cujo efeito

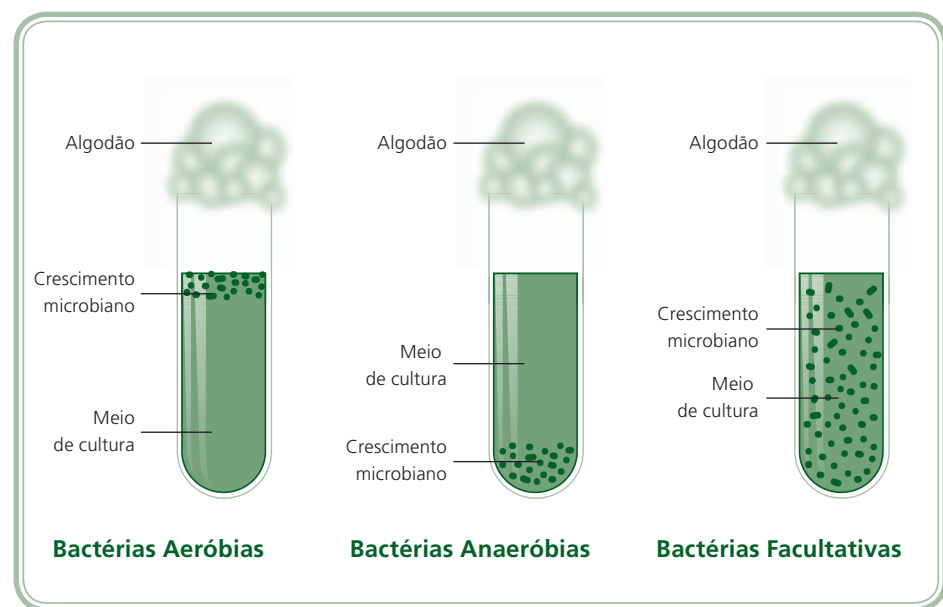


é a redução do pH. Algumas bactérias, *Clostridium botulinum*, por exemplo, têm a propriedade de reduzir o ácido butírico, a butanol que aumenta o pH do meio. O mesmo acontece com aquelas bactérias que produzem acetoína a partir de ácido pirúvico (*enterobacter spp.*, por exemplo).

## 5.4 Oxigênio

A tensão ou pressão parcial do oxigênio, bem como o potencial de oxidação (poder oxidante ou redutor) do alimento determina os tipos de microrganismos que se desenvolverão.

Do ponto de vista de aproveitamento de oxigênio livre, os microrganismos podem ser classificados em aeróbios, anaeróbios, microaerófilos e facultativo. São aeróbios quando necessitam de oxigênio; anaeróbios quando se desenvolvem na ausência de oxigênio e facultativo quando podem viver em condições aeróbias ou anaeróbias. Alguns autores incluem também os microaerófilos, quando o crescimento é melhor numa pressão reduzida de oxigênio.



**Figura 5.3: Crescimento das bactérias aeróbias, anaeróbias e facultativas**

Os microrganismos aeróbios metabolizam os carboidratos tendo como produto final CO<sub>2</sub>, água e ATP (adenosina trifosfato), molécula altamente energética. Já os microrganismos anaeróbios não podem obter energia como no caso anterior, porque eles não possuem o sistema enzimático necessário. Assim, do

ácido pirúvico, substância do metabolismo intermediário, eles podem formar ácido lático, álcool, etc., obtendo com isso energia. Comparando as reações podemos concluir que a primeira reação, energeticamente falando, é bem mais eficiente que a segunda. Isso explica porque as bactérias aeróbias, por produzirem maior quantidade de ATP, se multiplicam mais rapidamente que as anaeróbias.

Os mofos são estritamente aeróbios, as leveduras se desenvolvem melhor aerobicamente, mas podem viver na ausência do oxigênio, enquanto que as bactérias podem ser aeróbia, anaeróbias e facultativas.

As bactérias aeróbias, por produzirem maior quantidade de ATP, se multiplicam mais rapidamente que as anaeróbias.



Os fungos se multiplicam na presença do oxigênio, as leveduras e bactérias fermentam em anaerobiose.



Divida o conteúdo de uma lata de extrato de tomate em dois copos, evitando sujar as laterais dos copos. Em um dos copos, cubra o extrato de tomate com óleo de soja (uma lâmina de 0,5 a 1 cm de espessura). Cubra com papel laminado e deixe a temperatura ambiente de aproximadamente 28°C por 5 a 7 dias. Com outro copo, proceda da mesma forma sem a lâmina de óleo. Observe os dois copos, o que aconteceu? Justifique o resultado.



## 5.5 Composição química

Os microrganismos variam quanto a suas exigências aos fatores de crescimento e à capacidade de utilizarem diferentes substratos que compõem os alimentos.

**a) Fonte de carbono:** pode muitas vezes limitar o crescimento dos microrganismos. Os carboidratos complexos (polissacarídeos), tais como amido e celulose, não são diretamente utilizados necessitando de enzimas para reduzir estes polissacarídeos a moléculas de monossacarídeos a fim de passarem através dos poros da membrana microbiana.

As gorduras e os óleos são atacados por microrganismos lipolíticos como por exemplo, muitos fungos filamentosos, leveduras e bactérias (pseudomas, achromobacter, alcalígenes, e outros), porém grande número de microrganismos não tem capacidade de crescer nesses substratos. Microrganismos com atividade pectinolítica provocam a quebra de pectina dos vegetais.

- b) Fonte de nitrogênio:** não é tão importante quanto à fonte de carbono na limitação do desenvolvimento. Microrganismos proteolíticos são importantes em alimentos ricos em proteínas, onde provocam alteração no sabor e no odor.
- c) Fonte de vitaminas:** em geral, os alimentos possuem as quantidades necessárias para o crescimento dos microrganismos. As bactérias Gram-positivas são as mais exigentes de vitaminas do complexo B, sendo que as Gram-negativas e os fungos geralmente são capazes de sintetizar todas as vitaminas que necessitam.
- d) Sais minerais:** não são limitantes ao desenvolvimento microbiano.

## 5.6 Fatores antimicrobianos naturais

A estabilidade de alguns alimentos frente ao ataque de microrganismos é devido à presença de algumas substâncias naturalmente presentes nesses alimentos.

Os condimentos são um bom exemplo, pois contêm vários óleos essenciais com atividade antimicrobiana, tais como eugenol no cravo, alicina no alho, aldeído cinâmico e eugenol na canela, alil-asotiocianato na mostarda, timol e isotimol no orégano.

O ovo, em especial a clara, tem diversos agentes antimicrobianos. Além de apresentar pH desfavorável à multiplicação microbiana (entre 9 e 10), a clara do ovo é rica em lisozima, enzima capaz de destruir a parede celular bacteriana, sendo especialmente ativas em bactérias Gram-positivas. Além desses, agem também a avidina, a conalbina e outros inibidores enzimáticos.

Entre os fatores antimicrobianos naturais devem ser incluídas as estruturas biológicas que funcionam como barreiras mecânicas para a penetração de microrganismos. Nessa categoria estão as cascas de nozes, das frutas e dos ovos, a pele dos animais e a película que envolve as sementes.

Além dos fatores antimicrobianos naturalmente presentes nos alimentos, tem importante papel os compostos químicos propositalmente adicionados aos alimentos (conservadores) como recurso tecnológico para estender sua vida útil. É importante ressaltar que essas especiarias quando adicionadas nos alimentos, são em pequenas quantidades, não sendo capaz de atuarem como aditivos conservadores.

Deixe à temperatura de 28°C 4 nozes, duas com cascas e duas sem cascas. Observe o tempo em que cada noz apresenta alterações microbiológicas visíveis.



## 5.7 Interações entre microrganismos

Um determinado microrganismo, ao se multiplicar em um alimento, produz metabólitos que podem afetar a capacidade de sobrevivência e de multiplicação de outros microrganismos presentes nesse alimento. Assim, por exemplo, as bactérias produtoras de ácido láctico (bactérias lácticas) podem alterar o pH do alimento de tal forma que o tornam ácido demais para o crescimento de muitos outros microrganismos. Por outro lado, a formação de compostos alcalinos, como aminas, formados por ação de descarboxilases produzidas por muitos microrganismos resulta no aumento do pH do alimento, tornando-o propício na proliferação daquelas bactérias anteriormente inibidas pelo pH ácido. É o que ocorre com as leveduras que degradam o ácido láctico de alimentos fermentados, tornando-os favoráveis ao crescimento e produção de toxinas por *Clostridium botulinum*.

Os produtos do metabolismo de certas bactérias podem ser essenciais para a proliferação de outras. Podemos citar o exemplo da tiamina e do triptofano, que são essenciais para o *staphylococcus aureus*, e podem ser produzidas em determinados alimentos como consequência da contaminação com *Pseudomonas aeruginosa*.

### 5.7.1 Fatores extrínsecos

São os fatores relativos ao ambiente externo ao meio em que se encontra o microrganismo. Exemplo: Ovo – clara e gema: fatores intrínsecos; casca(embalagem) ambiente( temperatura e umidade): fatores extrínsecos.

### 5.7.2 Temperatura

A temperatura tem uma grande influência no crescimento dos microrganismos. Não é de surpreender, uma vez que todos os processos de crescimento são dependentes de reações químicas que são afetadas pela temperatura. A temperatura na qual uma espécie de microrganismo cresce mais rapidamente é a temperatura ótima de crescimento.

A temperatura ótima para uma espécie microbiana não é a temperatura mediana entre as temperaturas máxima e mínima. Em vez disso, é mais próxima do limite superior da variação de temperatura, porque a velocidade das reações enzimáticas aumenta com o aumento da temperatura até um ponto em que as enzimas são danificadas pelo calor e as células param de crescer.

Há muita controvérsia sobre a classificação dos microrganismos de acordo com a temperatura ideal de multiplicação. A mais aceita costuma dividir os microrganismos nos seguintes grupos:

**Microrganismos psicrófilos** - (crescem em baixas temperaturas), têm a temperatura de multiplicação entre 0°C e 20°C, com um ótimo entre 10°C e 15°C.

**Microrganismos psicotróficos** - (crescem em temperaturas moderadas), têm a temperatura ótima de multiplicação entre 25°C e 40°C, mínima entre 5°C e 25°C, e máxima entre 40°C e 50°C. Observe que eles se comportam como mesófilo, porém se a temperatura é de refrigeração eles conseguem se multiplicar normalmente.

**Microrganismos termófilos** - (crescem em altas temperaturas), têm a temperatura ótima de multiplicação entre 45°C e 65°C, mínima entre 35°C e 45°C, e máxima entre 60°C e 90°C.

Os microrganismos psicrófilos e psicotrófico multiplicam-se bem em alimentos refrigerados, sendo os principais agentes de deteriorização de carne, dos pescados, dos ovos, dos frangos e outros. Nesse grupo podem ser incluídos os seguintes gêneros: *Pseudomonas Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* e outros.

**Microrganismos mesófilos** - correspondem à grande maioria daqueles da importância em alimentos, inclusive a maior parte dos patógenos de interesse.

A maioria das bactérias termófilas importantes pertencem ao gênero *Bacillus* e *Clostridium*, incluído tanto espécies deterioradoras (*Bacillus coagulans*, *Clostridium thermosaccharolyticum*), quanto espécies patogênicas (*Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*).

Os fungos são capazes de crescer em faixa de temperatura mais ampla do que as bactérias. Muitos fungos são capazes de se multiplicar em alimentos refrigerados. As leveduras, por sua vez, não toleram bem altas temperaturas, preferindo às baixas, mesófila e psicrófila.



Muitos fungos e bactérias deterioradoras são psicrófilas. A maioria das bactérias causadoras de infecção e toxinfecção alimentar são mesófilas ou termófilas

A barreira entre os fatores intrínsecos do alimento e os fatores extrínsecos é a embalagem.



## 5.8 Umidade

Há uma correlação estreita entre a atividade de água (Aa) de um alimento e a umidade relativa de equilíbrio do ambiente.

Alimentos conservados em ambiente com UR superior a sua Aa tenderão a absorver umidade do ambiente, causando um aumento em sua Aa. Por outro lado, os alimentos perderão água se a umidade for inferior à sua Aa, causando uma diminuição nesse valor. Essas alterações provocarão modificações na capacidade de multiplicação dos microrganismos presentes, que será determinada na Aa final, conforme discutido anteriormente.

### 5.8.1 Composição gasosa do ambiente

A composição gasosa do ambiente que envolve um alimento pode determinar os tipos de microrganismos que poderão nele predominar. A presença de oxigênio favorecerá a multiplicação de microrganismos aeróbios, enquanto que sua ausência causará predominância dos anaeróbios, embora haja bastante variação na sensibilidade dos anaeróbios ao oxigênio.

## Resumo

Nesta aula, você estudou como os microrganismos descrevem a curva de crescimento, quais os fatores que influenciam esse crescimento, as fases da curva de crescimento e o que caracteriza o início e o fim de cada fase; os tipos de associações e os fatores intrínsecos e extrínsecos que influenciam na velocidade de crescimento dos microrganismos.

## Atividades de aprendizagem

1. Por que o crescimento das bactérias descreve uma progressão geométrica?
2. Qual o tempo de geração de uma bactéria?
3. Diferencie contaminação de inoculação?
4. O que caracteriza a fase de latência?

5. Quando se inicia a fase log?
6. Quando ocorre o fim da fase log?
7. Como podemos prolongar a fase lag?
8. Qual a importância das fases de latência e logarítmica na conservação e produção de alimentos?
9. Em que fase da curva de crescimento, encontramos células velhas e resistentes?
10. Que são fatores intrínsecos e extrínsecos?
11. Como se comporta a embalagem nos alimentos?
12. O que ocorre no sinergismo?
13. Quais são os fatores intrínsecos?
14. Quais são os fatores extrínsecos?
15. Qual a importância dos fatores intrínsecos na produção e na conservação dos alimentos?

# Aula 6 – Alterações microbianas sobre as substâncias dos alimentos

## Objetivo da aula

Ao final da aula você deverá ter condições de:

Aprender sobre os principais microrganismos encontrados nos alimentos, sua fonte de origem e como eles atuam sobre as substâncias dos alimentos.

## 6.1 Alterações microbianas sobre os alimentos

Os microrganismos no alimento podem causar alterações desejáveis, quando são benéficos por modificarem as características originais do alimento de forma a obter-se um novo produto, como por exemplo, os microrganismos utilizados na fabricação de queijos, vinhos, cervejas, pães, etc.; Indesejáveis (deterioradores) quando são causadores de alterações químicas prejudiciais ao alimento, que resultam em alterações de cor, odor, sabor, textura e aspecto indesejável do alimento. Essas alterações são consequência da atividade metabólica natural dos microrganismos que estão apenas tentando perpetuar a espécie, utilizando o alimento como fonte de energia; e como agentes patogênicos que, quando presentes nos alimentos, podem representar algum risco para a saúde.

A seguir, serão listados as principais fontes primárias e gêneros de bactérias e fungos normalmente encontrados em alimentos.

O manual de sistemática bacteriana da Bergey (o Bergey's manual of systematic bacteriology) é um livro de referência internacional que contém a descrição de todos os gêneros e espécies de bactérias, bem como fornece uma organização prática para a diferenciação desses organismos, juntamente com esquemas e tabelas de classificação apropriada.



## 6.2 Fontes de microrganismos encontrados em alimentos

**Solo e água** – os microrganismos encontrados no solo e na água são basicamente os mesmos, uma vez que os microrganismos do solo são carregados para os rios, lagos e mares através da chuva. Os aquáticos chegam ao solo através da formação das nuvens que se precipitam em forma de chuvas. Os microrganismos aquáticos que necessitam da salinidade da água não são capazes de sobreviver em solos.

**Ar e poeira** – estão presentes no ar e na poeira os microrganismos do solo que estão transitoriamente em suspensão. Exemplo: *Alcaligenis*, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Corynebacterium*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Serratia vibrio*, *Streptomyces*, *Penicillium*, *Trichothecium*, *Botrytis*, *Fusarium*.

**Plantas e derivados** – são contaminantes das plantas os microrganismos do solo que são capazes de aderir e se multiplicar no tecido vegetal. Exemplos: *Acetobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Curtia*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Sacaromyces*, *Penicillium*, *Aspergillus*.

**Trato gastrointestinal** – a biota intestinal consiste de muitos microrganismos os quais não sobrevivem por muito tempo na água. Nessa microbiota se encontra todas as enterobactérias, inclusive patógenos importantes. Exemplos: *Bacteriodes*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Shiguella*, *Proteus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*.

**Manipuladores de alimentos** – a microbiota das mãos, cavidades nasais, boca, pele e trato intestinal são provenientes do solo, água e de outras fontes do meio e chegam ao alimento devido às práticas sanitárias e higiênicas deficientes do manipulador. Exemplos: *Micrococcus*, *Staphylococcus*.

## 6.3 Alterações microbianas sobre os constituintes dos alimentos

Embora algumas vezes pareça que os microrganismos estão tentando arruinar nossas vidas por arruinarem nossas fontes de alimentos, inclusive infectando e destruindo plantas, animais e até humanos, isso não é verdade. Na natureza, o principal objetivo dos microrganismos é a sua própria perpetuação, sendo necessário para isso a utilização da matéria orgânica (carboidratos, proteínas e lipídios) para obtenção de energia a partir de nossos alimentos.

Muitos são os gêneros e espécies de bactérias envolvidas na eventual deterioração dos alimentos. A predominância de um determinado tipo depende de suas características fisiológicas e bioquímicas e de adequação do alimento como substrato ao desenvolvimento. Os carboidratos (que você estudará a seguir), substâncias nitrogenadas não proteicas, proteínas e lipídios podem se constituir em nutrientes para os microrganismos, havendo como consequência, sensíveis alterações nas características químicas, físicas e organolépticas dos alimentos.

Os microrganismos podem ser desejáveis em uma dada situação e, indesejáveis em outra. Por exemplo: se desejamos ter um suco de uva, ou um copo de leite, os microrganismos fermentadores seriam indesejáveis, porém se quisermos um vinho ou uma coalhada, estes seriam desejáveis. Todos os microrganismos desejáveis, deterioradores e patógenos, são provenientes dessas fontes primárias ou através de vetores ou contaminação cruzada.

## 6.4 Utilização dos carboidratos

Praticamente todo carboidrato (polissacarídeo, dissacarídeo e monossacarídeo) está sujeito à utilização como substrato para crescimento microbiano, basicamente como fonte de energia. As condições em que ocorre esta utilização são de importância crítica no sentido de definir a natureza das alterações provocadas e a maior ou menor intensidade do crescimento microbiano. Assim, na presença de oxigênio, as bactérias aeróbias facultativas irão predominar com um metabolismo respiratório oxidativo, levando a produção de  $H_2O$  e  $CO_2$  sem acúmulo excessivo de produtos intermediários; no entanto, em face de mais intensa produção de energia na forma de ATP, o crescimento microbiano será muito mais rápido acarretando alterações nas características organolépticas e vida útil do produto.

Em anaerobiose as bactérias passam a utilizar os carboidratos por um processo fermentativo, com o acúmulo gradativo de produtos intermediários ou finais que afetam as características dos alimentos.

A grande maioria das bactérias é capaz de utilizar diretamente os mono e os dissacarídeos por um processo oxidativo ou fermentativo, no entanto, os polissacarídeos, como amido e celulose, não penetram através da membrana celular das bactérias, sendo necessária a sua prévia hidrólise pela atividade de enzimas extracelulares produzidas por algumas bactérias. Exemplo: o amido é hidrolizado pela ação de  $\alpha$ -amilase a maltose; celulose por celulase dando glicose etc.

A metabolização dos açúcares por um processo fermentativo leva a produção de ácido pirúvico numa etapa intermediária, no entanto, os produtos finais do metabolismo fermentativo são extremamente variáveis nos diversos gêneros e espécies de bactérias. Quando a fermentação resulta na obtenção de  $\text{CO}_2$  de um único produto final é denominada de homofermentação; quando a fermentação resulta em mais de um produto final é denominada de heterofermentação.

### 6.4.1 Tipo de fermentação

**Fermentação homolática** – com formação de ácido láctico. É característica de algumas bactérias lácticas nos gêneros *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*.

**Fermentação heterolática** – com formação de ácido láctico, etanol e  $\text{CO}_2$ , ocorrendo em bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Leuconostoc*.

Se desejarmos isolar bactérias amilolíticas, vamos procurá-las em alimentos ricos em amido, como raízes e tubérculos; no caso das bactérias pectinolíticas ou lácticas, recorreremos aos frutos e leite respectivamente.

**Fermentação alcoólica** – com produção de etanol, acetaldeído e  $\text{CO}_2$  e provocada por bactérias do gênero *Zymomonas*.

**Fermentação butanodiólica** – semelhante à anterior, mas com menor produção de ácidos e formação de 2-3 butanodiol, ocorrendo nos gêneros *Enterobacter*, *Serratia*, *Aeromonas* e em *Bacillus polymyxa*.

**Fermentação butírica** – com predominância de ácido butírico, ácido acético,  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2$  e típica de *Clostridium ssp*.

**Fermentação propiônica** – com produção de ácido propiônico, ácido acético, ácido succínico e  $\text{CO}_2$ .

Na degradação de um polissacarídeo até a obtenção de um monossacarídeo, várias enzimas participarão do processo.



Faça uma massa com 300g de farinha de trigo, 20g de margarina, 30g de açúcar, 50g de fermento biológico (fermento para pão) e água suficiente para fazer uma massa elástica. Deixe a massa repousar por 2 horas. Observe o crescimento da massa e, em seguida, justifique o ocorrido.

## 6.4.2 Decomposição de proteínas e utilização de substâncias nitrogenadas

Os microrganismos só conseguem aproveitar as moléculas menores de proteína, os peptídios, e não a proteína intacta, pois esta não consegue atravessar a membrana celular. Não são muitas as bactérias que evidenciam intensa atividade proteolítica, no entanto, espécies do gênero *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Proteus* e *Aeromonas* demonstram tal capacidade.

As alterações de proteínas nitrogenadas não proteicas decorrentes da ação de enzimas extracelulares, acarretam marcantes alterações nos alimentos tais como amolecimento, mudança de cor e aroma.

Denomina-se putrefação ao processo deteriorável, resultante da utilização anaeróbia das proteínas e substâncias nitrogenadas não proteicas. Nessa reação ocorre a formação de substâncias de odor pútrido (mercaptanas, aminas, etc.); e decomposição para os casos em que a degradação é aeróbia, com oxidação dos produtos metabólicos.

Alguns produtos decorrentes da utilização microbiana de aminoácidos específicos merecem especial menção.

- A decomposição de triptofano resulta na formação de indol e escatol, que em concentrações elevadas apresentam aroma pronunciado e desagradável.
- A descarboxilação de certos aminoácidos como a lisina e ornitina resultam na formação de aminas de aroma muito intenso como a cadaverina e putrescina.
- A histidina livre presente em alimentos, com particular abundância em peixes da família *Scombridae* (atum, bonito, cavalinha) é decomposta por bactérias, principalmente por *Proteus morgani*, resultando no acúmulo de histamina nos tecidos. A presença de histamina e outras aminas biogênicas nos alimentos, em concentrações acima de 100mg/100g, têm sido relatadas como responsáveis por casos e surtos de intoxicações.

Outras substâncias voláteis decorrentes da decomposição microbiana de aminoácidos são de grande importância tais como: gás sulfídrico, dimetil sulfeto e o metil mercaptano, responsável pelo odor nauseante de pescados deteriorados; TMA (trimetilamina) é outra substância volátil presente em peixes em deterioração.

### 6.4.3 Decomposição de lipídios

Os principais lipídios em alimentos são as gorduras, basicamente ésteres de glicerol e ácidos graxos e denominados triglicerídios. As gorduras presentes nos alimentos estão sujeitas a processos de hidrólise e oxidação, que resultam na formação de vários compostos. O processo hidrolítico é catalisado pelas lípases, enzimas produzidas por algumas bactérias principalmente nos gêneros *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, muitas delas psicotróficas e associadas com deterioração de alimentos gordurosos mantidos sob refrigeração.

Os óleos puros e as gorduras não são atacados por microrganismos, uma vez que eles não crescem na ausência de água. No entanto, nos alimentos gordurosos que também contêm água a situação é diferente. Uma vez que a interação entre água e gordura é baixa, a existência de uma fase aquosa associada à gordura é suficiente para o desenvolvimento microbiano. É o que acontece em alimentos como margarina, manteiga creme de leite. A gordura deteriorada é denominada rançosa, cabendo diferenciar a rançificação hidrolítica, geralmente de origem microbiana, da oxidativa que usualmente não envolve a participação de microrganismos, embora alguns bolores nos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* produzam enzimas oxidativas.



Coloque em temperatura ambiente (28°C) duas amostras, uma de um queijo gorduroso e outra de óleo de soja. Observe o comportamento das duas amostras e, em seguida, justifique o que ocorreu.

## Resumo

Nesta aula, você conheceu os principais microrganismos encontrados nos alimentos, sua fonte de origem e como eles atuam sobre as substâncias dos alimentos.

## Atividades de aprendizagem

1. De acordo com o papel que desempenham, como são classificados os microrganismos?
2. Quais as fontes de contaminação dos microrganismos?

3. Quais os principais microrganismos encontrados no solo, água, vegetais, trato intestinal e manipuladores de alimentos?
4. De que dependerá a velocidade de deterioração dos alimentos?
5. Com que fim os microrganismos metabolizam os carboidratos?
6. Quais as diferenças metabólicas das bactérias aeróbias e anaeróbias?
7. Diferencie homofermentação de heterofermentação?
8. Que tipos de alterações perceptíveis nos alimentos são decorrentes da ação microbiana sobre as proteínas?
9. Diferencie decomposição de putrefação?
10. Como se denomina a gordura deteriorada?
11. Que são lípases?



# Aula 7 – Mecanismos de produção de doenças dos microrganismos

## Objetivo da aula

Ao final da aula você deverá ter condições de:

Identificar os mecanismos pelos quais os microrganismos causam doenças de origem alimentar

## 7.1 Infecções e toxinfecções

Os microrganismos causam doenças de origem alimentar (gastroenterites), através de processos de toxinfecções alimentares ou de infecção.

**Toxinfecções ou intoxicações alimentares:** infecções causadas pela ingestão de alimentos contendo toxinas microbianas pré-formadas.

**Infecções alimentares:** infecções causadas pela ingestão de alimentos contendo células viáveis de microrganismos patogênicos.

Na toxinfecção alimentar, a toxina é formada no alimento e, em concentração capaz de produzir a doença, sendo ingerida na alimentação, poderá causar a toxinfecção. Na infecção, o agente infeccioso é ingerido juntamente com o alimento, que vence as barreiras protetoras do hospedeiro, coloniza a mucosa intestinal e desencadeia o processo infeccioso.

## 7.2 Mecanismos de patogenicidade

Os diferentes microrganismos causadores de doenças de origem alimentar podem apresentar diversos mecanismos que podem dar início à doença. As toxinas dos fitoplâncton, as micotoxinas de fungos e as toxinas das bactérias Gram-positivas são pré-formadas no alimento ou no trato intestinal durante a esporulação a exemplo do *Clostridium Perfringens*.



A dose mínima infectante é a quantidade mínima de células do microrganismo patogênico ou toxina, capaz de produzir a síndrome da doença

### **7.2.1 Mecanismos de patogenicidade das bactérias Gram-negativas**

A patogênese e as propriedades de virulência desse grupo de bactérias são diferentes das Gram-positivas e muito mais complexas por serem características medidas por múltiplos fatores. De um modo geral uma bactéria causa infecção alimentar quando é capaz de:

- infectar as superfícies, mucosas gastrointestinal;
- penetrar no organismo geralmente por essas superfícies mucosas;
- multiplicar-se nas condições ambientais do trato gastrointestinal;
- causar danos ao tecido mucoso do hospedeiro.

Bactérias Gram-positivas causam toxinfecção alimentar.

Bactérias Gram-negativas causam infecção alimentar.

Apesar de serem determinados geneticamente, os fatores de patogenicidade e virulência das bactérias expressam-se apenas quando existem condições, favoráveis. Estas condições são específicas para cada microrganismo e podem variar de hospedeiro para hospedeiro e mesmo entre diferentes tecidos de um mesmo hospedeiro. Além disso, veremos posteriormente, que alguns fatores de virulência precisam interagir com estruturas químicas específicas (receptores) das células do hospedeiro, para exercer a sua ação sobre a mesma. A ausência de um receptor apropriado, nos tecidos de um hospedeiro, pode torná-lo resistente a um determinado patógeno. Portanto, a ausência de condições ambientais favoráveis e/ou de receptores específicos poderia explicar porque algumas doenças só ocorrem em determinadas espécies de animais ou afetam apenas setores específicos do corpo.

O mecanismo de patogenicidade das bactérias está relacionado aos processos interativos entre o agente infeccioso e o hospedeiro; os fatores relacionados a células do microrganismo, as substâncias produzidas pelos

microrganismos e a interferência com mecanismos de defesa do hospedeiro. A seguir, veja a relação entre o agente e o hospedeiro.

### **7.3 Relação entre agente X hospedeiro**

O primeiro requisito para o estabelecimento de uma infecção é que o patógeno entre em contato com a camada de muco que recobre a superfície epitelial da mucosa do hospedeiro. Feito o contato inicial, o patógeno adere às células epiteliais para escapar dos mecanismos de remoção bacteriana disponível no local, como o fluxo das secreções e a ação mucociliar.

A aderência permanente da bactéria ao tecido do hospedeiro requer o estabelecimento de ligações específicas entre estruturas complementares na superfície das bactérias e da célula epitelial. Essas estruturas compreendem as adesinas (fimbrias, fibrilas e glicocálices), na superfície bacteriana, e os receptores, na superfície da célula epitelial.

A maioria das bactérias para estabelecer um processo infeccioso precisa penetrar as mucosas (invasão) e disseminar-se pelo organismo do hospedeiro, entretanto, algumas espécies bacterianas, como o *Vibrio cholerae* e a *Escherichia coli* enteropatogênica não penetram na mucosa, mas causam seus efeitos prejudiciais por meio de exotoxinas.

É indispensável que haja receptores no nível do epitélio intestinal do hospedeiro para que ocorra a fixação do agente produtor da infecção.

### **7.4 Multiplicação nos tecidos do hospedeiro**

Para ser patogênica, uma bactéria deve ser capaz de sobreviver e multiplicar-se nos tecidos do hospedeiro. A maioria dos patógenos pode adquirir nutrientes suficientes por algumas gerações. A velocidade com que esses nutrientes são encontrados e utilizados é extremamente importante. Outros fatores que podem contribuir para limitar o crescimento microbiano no início de uma infecção, é a alta tensão de oxigênio que restringe o crescimento de anaeróbios, ou a escassez de ferro livre. Muitas bactérias patogênicas secretam compostos quelantes de ferro.

O número de células que se multiplicam, depende de condições favoráveis encontradas no epitélio do hospedeiro. A gravidade da doença depende da virulência do agente infeccioso.

## 7.5 Produção de toxinas

As bactérias patogênicas podem provocar danos aos tecidos do hospedeiro através de produção de toxinas e desencadeamento de reações imunológicas prejudiciais e, algumas vezes, mortais. A maioria dessas toxinas é exotoxina, isto é, após serem produzidas pelas bactérias são eliminadas para o meio ambiente.

No caso da infecção, a produção de toxina ocorre no epitélio do hospedeiro por bactérias aderentes e ou invasivas.

Uma característica comum das exotoxinas é sua natureza proteica.

As endotoxinas são componentes integrantes da membrana externa da parede das bactérias Gram-negativas. A natureza química das endotoxinas só exerce seus efeitos tóxicos, quando são liberadas durante a lise bacteriana.

### 7.5.1 Interferência com mecanismos de defesa do hospedeiro

As bactérias patogênicas têm que vencer os fatores antibacterianos séricos, fagocitose e respostas imunológicas humoral e celular do hospedeiro.



Baseado no que você estudou, faça uma pesquisa e identifique uma bactéria que causa infecção alimentar, um fungo e uma bactéria que causam toxinfecção alimentar.

## Resumo

Nesta aula, você estudou os mecanismos pelos quais os microrganismos causam infecção e toxinfecção alimentar.

## Atividades de aprendizagem

1. O que é toxinfecção alimentar?
2. O que é infecção alimentar?
3. Que são micotoxinas?

4. Que são endotoxinas e exotoxinas?
5. Quais das duas formas de toxinas, citadas anteriormente? Elas se enquadram na maioria das toxinfecções?
6. Uma bactéria patogênica, quando ingerida, sempre causará doença?
7. Quais as etapas necessárias para que ocorra uma infecção alimentar?
8. As bactérias Gram-positivas são responsáveis por que tipo de doença? E as Gram-negativas?
9. Que são processos de invasividade?
10. Quais as defesas do hospedeiro em relação ao agente infeccioso?



# Aula 8 – Normas em laboratório de Microbiologia

## Objetivo da aula

Ao final da aula você deverá ter condições de:

Conhecer as normas de trabalho em laboratório de Microbiologia.

## 8.1 Normas em laboratório de Microbiologia

Em laboratório, onde se realizam análises microbiológicas, deve-se obedecer a uma série de normas que visam eliminar ou minimizar os riscos de contaminação, não só dos alimentos a serem analisados bem como dos manipuladores, visto que, sempre existe a possibilidade de se estar trabalhando com material contaminado por patógenos.

Os laboratórios ao realizarem as diferentes análises estão permanentemente em contato com microrganismos patógenos e apatógenos. A observação destas normas visa também, além do acima exposto, assegurar a exatidão dos resultados das análises efetuadas.

### 8.1.1 Higiene pessoal e equipamentos de proteção

- Não participar dos trabalhos, se portador de algum ferimento nas mãos.
- Deixar fora do laboratório roupas, agasalhos, carteiras, pastas, livros, ou qualquer outro pertence que não será utilizado no laboratório
- Lavar sempre as mãos ao entrar e antes de sair do laboratório.
- Usar avental, luvas e protetor capilar.
- Não fumar, comer ou ingerir líquidos no laboratório.
- Não tocar os olhos, boca e nariz com as mãos.
- Não umedecer etiquetas com a língua.

- Não usar avental para limpar objetos ou instrumentos de trabalho.
- Tratar imediatamente qualquer ferimento provocado durante o trabalho (cortes e arranhões).
- Comunicar imediatamente ao chefe imediato, qualquer suspeita de haver contraído uma enfermidade indicando o material ou o microrganismo com o qual estava trabalhando no momento.



Memorize as normas acima e sem consulta repasse para o papel os conhecimentos obtidos. Repita esse treinamento até ter memorizado completamente.

## 8.2 Normas de trabalho microbiológico

- Planejar cada tarefa levando em consideração o tempo necessário para execução e leitura da mesma.
- Trabalhar sempre de maneira ordenada, tranquila, constante e metódica, evitando movimentos desnecessários.
- Limpar e desinfetar a superfície da bancada de trabalho, antes e após a tarefa de cada dia.
- Anotar:
  - a) tipo de amostra;
  - b) data e hora da chegada ao laboratório e qualquer outra observação prévia à análise;
  - c) na análise propriamente dita, anotar método utilizado, meio de cultura empregado, resultados obtidos e outras anotações que julgar importante.
- O material a analisar deve ser tocado, exclusivamente, com instrumentos estéreis e nunca com as mãos.
- No caso de derramamento fortuito do material infectado, desinfetar e esterilizar novamente.
- Colocar todo o material usado, tais como: lâminas, pipetas, etc., em recipientes adequados com solução desinfetante.

- Todo o material deve seguir preferencialmente a sequência abaixo:
  - a) esterilização;
  - b) lavagem;
  - c) secagem;
  - d) esterilização;
  - e) armazenamento.
- Os cultivos, após a leitura, devem ser esterilizados.
- Ao sair do laboratório verificar se estão fechados registros de gás e água.
- Deixar todo o laboratório limpo e ordenado para o dia seguinte.

Fazer um roteiro das normas a serem seguidas de forma clara e objetiva.



## Resumo

Nesta aula, você conheceu as normas definidas para higiene do pessoal que trabalha no laboratório, dos equipamentos e utensílios e a sequência de planejamento.

## Atividades de aprendizagem

1. A que visam as normas em laboratório de Microbiologia?
2. Como se deve proceder em um laboratório de Microbiologia, para assegurar a saúde do manipulador?
3. Qual a importância da desinfecção da bancada de trabalho?
4. Por que só se deve tocar alimentos durante a análise microbiológica, com material estéril?



5. Qual a sequência de tratamento necessário aos materiais de laboratório de Microbiologia?
6. Qual a necessidade da esterilização do cultivo microbiológico após a leitura?

# Aula 9 – Processo de esterilização, desinfecção e preparo do material para uso em análises microbiológicas de alimentos

## Objetivo da aula

Ao final da aula você deverá ter condições de:

Aprender os agentes físicos e químicos utilizados no processo de esterilização e desinfecção, as diluições de álcool e cloro utilizados nos processos de desinfecção, e as etapas do preparo do material utilizado nas análises microbiológicas.

## 9.1 Processo de esterilização e desinfecção

De maneira geral, podemos informar que o termo esterilização implica no uso de agentes físicos e/ou químicos para eliminar totalmente os organismos vivos de um material. Em contrapartida, o termo desinfecção se entende pelo uso de agentes químicos germicidas para destruição da infeciosidade potencial de um dado material, não implicando, portanto, na eliminação total dos organismos vivos.

Na contaminação, os microrganismos chegam ao alimento espontaneamente e, na inoculação, a cultura microbiana é adicionada intencionalmente ao alimento, visando uma alteração desejada.

## 9.2 Agentes utilizados

- **Agentes físicos**

Calor úmido: técnica preferencial para esterilização de todo o material, com exceção daqueles que por qualquer razão poderiam sofrer alterações (por exemplo: soluções de açúcares). Recomenda-se o uso de autoclave a 121°C por 15 minutos.

Calor seco: a esterilização segura pelo calor seco requer uma temperatura de 160°C por 1 ou 2 horas. A esterilização por calor seco é usada de uma maneira geral para materiais de vidro ou metal.

Radiação UV: o efeito bactericida muito conhecido da luz solar deve-se na realidade às irradiações ultravioletas que é um desnaturante proteico. Quanto menor o comprimento de onda, maior sua ação bactericida.

- **Agentes químicos**

Dissolução dos lipídios da membrana celular (detergentes lipossolubilizantes).

Alterações irreversíveis das proteínas (mediante o uso de desnaturizantes, quelantes, etc.).

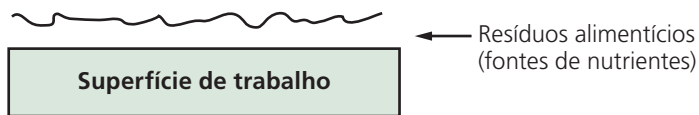
## **9.3 Biofilmes microbianos**

Na natureza e nos alimentos, os microrganismos crescem como uma comunidade, que quando aderem uma superfície formam uma película invisível a olho nu chamada de biofilme.

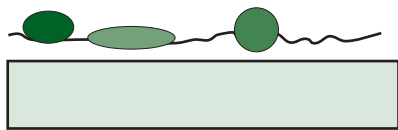
As células microbianas que formam o biofilme estão embebidas em uma matriz polimérica. Desta forma, os alimentos podem ser contaminados com bactérias degradadoras e patogênicas, provenientes do contato com o biofilme.

Os biofilmes se formam em qualquer superfície. Para a formação do biofilme, inicialmente os nutrientes dos alimentos são adsorvidos na superfície formando um filme condicionante, em seguida, os microrganismos aderem a esta superfície, multiplicam-se e formando microcolônias, dando sequência a uma camada de célula. Geralmente, uma limpeza efetiva e um programa de sanitização podem inibir a formação de biofilme.

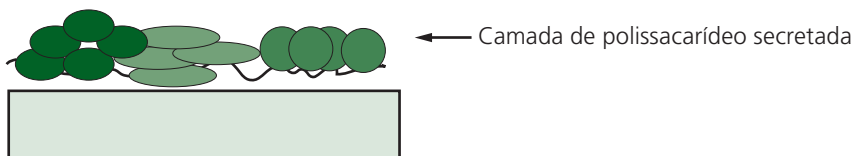
**a** Filme condicionante de resíduos alimentícios na superfície de trabalho



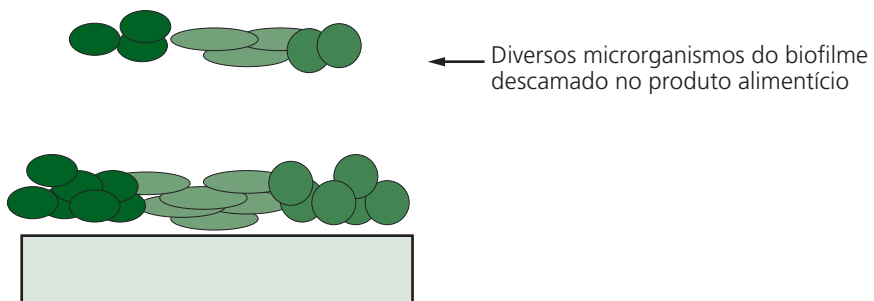
**b** Microrganismos aderidos à superfície condicionada



**c** Os microrganismos dividem-se e formam microcolônias. A formação de polissacarídeo estabiliza o biofilme

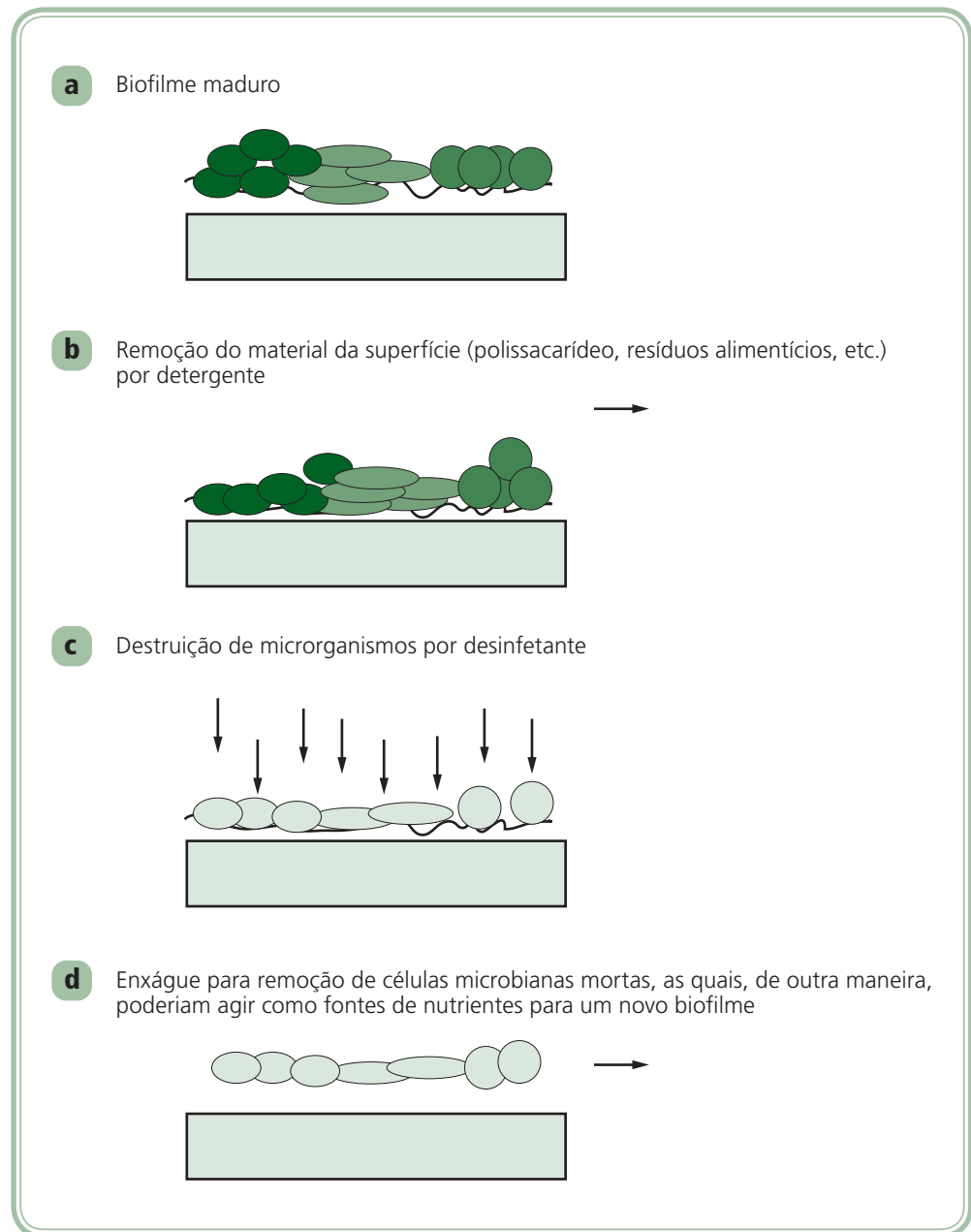


**d** Fragmentos de biofilme que descamam periodicamente



**Figura 9.1: Formação de biofilme**

Fonte: Forsythe (2002, p. 153)



**Figura 9.2: Remoção de biofilmes**

Fonte: Forsythe (2002, p. 154)

## 9.4 Preparação do álcool a 70%

O álcool é um produto hidratado, porém tem um poder de evaporação muito rápido. O poder bactericida pode ser melhorado se aumentarmos seu tempo de contato com as superfícies. O álcool a 93,8% tem um maior poder de volatilização, portanto para melhor ação bactericida devemos diluir o álcool a 70%.

Sabemos que o álcool comercial possui:

96°GL (Gay Loussac) – densidade vol/vol que corresponde a 92,8 INPM (Instituto Nacional de Pesos e Medidas) que é a relação peso/volume.

Logo, 100ml de álcool é constituído de 938ml de álcool e 62ml de água. Com isso podemos fazer a seguinte relação:

1000ml.....92,8%

X.....70%

X = 754,31ml de álcool

$1000 - 754,31 = 245,69$

755ml de álcool + 245ml de água equivale ao álcool a 70%

O álcool diluído a 70% permite um maior tempo de contato com o microrganismo e por isso possui maior poder bactericida.

## 9.5 Diluição de produtos clorados em PPM

É importante conhecer a concentração de cloro ativo nos produtos. Os fornecedores informam sempre a concentração em g% havendo a necessidade de transformar em PPM (partes por milhão). Por isso, devemos transformar as medidas para mg/l.

O cloro é um excelente germicida.

Ex. água sanitária possui:

2,5% de cloro ativo – 2,5g/100ml – 25g/1000ml (1L) – 25000 PPM

25000mg/1L

25mg/1ml

Se desejarmos fazer uma diluição a 200 PPM (200g/ml) e já sabemos que para cada 1ml corresponde a 25mg de cloro, devemos utilizar 8ml de água sanitária.

1ml – 25mg de cloro ativo

X – 200mg

X = 8ml de água sanitária

08ml + 992ml de água

O cloro comercial possui 10% de cloro ativo – 100mg/1ml.

Se desejarmos uma diluição de 200 PPM teremos que utilizar 2ml de cloro comercial.

100mg – 1ml

200mg – X

2ml de cloro comercial + 998ml de água

## 9.6 Preparo do material para uso em análises microbiológicas de alimentos

Todos os materiais para uso em análises microbiológicas de alimentos devem ser preparados de forma a garantir que estes se encontrem totalmente limpos, estéreis e isentos de resíduos químicos e orgânicos no momento das análises. As etapas de preparo desse material incluem a descontaminação, descarte de resíduos contaminados, lavagem, acondicionamento e esterilização.

A esterilização de vidrarias deve ser feita, preferencialmente, em estufa, porque ao final da esterilização o material encontra-se completamente seco.



Pipetas com capacidade menor que 1,0ml nunca devem ser esterilizadas em estufas, pois as altas temperaturas provocam alterações significativas nas medidas de volume.

### 9.6.1 Etapas de preparação do material

#### 9.6.1.2 Descontaminação e descarte de resíduos contaminados

Todo material resultante das análises microbiológicas é altamente contaminado, com milhares de vezes do número de células viáveis em comparação com as contagens, normalmente, encontradas nos alimentos. Esse material inclui

meio de cultura onde foi obtido o crescimento microbiano. Toda vidraria e demais utensílios que tenham entrado em contato com os microrganismos, para a descontaminação deve ser submetido à esterilização em autoclave a 121°C por 30 minutos. Portanto, antes se deve afrouxar as tampas de todos os frascos com detergente para amolecer resíduos em pipetas e facilitar a remoção, durante a etapa seguinte de lavagem.

### 9.6.1.2 Lavagem

Na lavagem de vidrarias e demais utensílios, os detergentes mais utilizados são os que contêm compostos alcalinos como silicatos, carbonatos ou fosfatos. Quando é necessária a aplicação de agentes mais fortes, no caso por exemplo, de pipetas que não permitam a introdução de escovas usa-se, frequentemente, solução sulfocrômica, constituída de ácido sulfúrico e dicromato de potássio e a solução alcoólica 1N de hidróxido de sódio. O enxofre desse material deve garantir a total eliminação de resíduos que podem interferir e prejudicar os resultados das análises.

O bom resultado analítico depende de todos os cuidados higiênicos no laboratório, com a amostra, a área física, os materiais de análises e com o laboratorista.

### 9.6.1.3 Acondicionamento

- **Placas de petri** – devem ser acondicionadas em estojos de alumínio ou aço inoxidável ou embrulhadas em papel Kraft em grupos de até 10 placas.
- **Pipetas** – preencher o bocal com algodão e acondicionar em porta pipetas com as pontas viradas para baixo. Na extremidade oposta a da tampa é prudente proteger o fundo do estojó com gaze ou algodão. Pode-se também embrulhar individualmente em papel Kraft, identificando-se a extremidade que deve ser aberta no momento da análise.
- **Tubos de ensaio vazios** – fechar com tampão de algodão ou com as respectivas tampas. Acondicionar em grupos, em cestas apropriadas, cobrir a parte superior dos tubos com papel Kraft e amarrar com barbante. Deve-se proceder da mesma forma com frascos de homogeneização e outros frascos vazios.
- **Espátulas, pinças, tesouras e demais utensílios** – embrulhar individualmente com papel Kraft, identificando a extremidade do embrulho que deve ser aberta no momento da análise.



Muitos laboratórios utilizam métodos rápidos de análises microbiológicas. Usa-se também placas de petri e ponteiros de pipetas automáticas descartáveis.

#### 9.6.1.4 Esterilização

Na esterilização em estufa, o material deve permanecer a 170°C/1h e na esterilização em autoclave a 121°C/15 minutos. Deve-se evitar trabalhar com a estufa ou autoclave muito cheias para facilitar transferência de calor.

A esterilização de vidrarias deve ser feita, preferencialmente, em estufa, porque ao final da esterilização o material encontra-se completamente seco.



Pipetas com capacidade menor que 1,0ml nunca devem ser esterilizadas em estufas, pois as altas temperaturas provocam alterações significativas nas medidas de volume.

## Resumo

Nesta aula, você aprendeu sobre os agentes físicos e químicos utilizados no processo de esterilização e desinfecção, as diluições de álcool e cloro utilizados nos processos de desinfecção, e as etapas do preparo do material utilizado nas análises microbiológicas

## Atividades de aprendizagem

1. Para que fazer a descontaminação do material resultante da análise microbiana?
2. Como se realiza a descontaminação?
3. Quais os detergentes mais utilizados na lavagem de vidrarias e utensílios de laboratório?
4. Quando usar a solução sulfocrômica?
5. De que é composta a solução sulfocrômica?
6. Como acondicionar placas de petri e pipetas?

- 7.** Como acondicionar tubos e materiais metálicos?
- 8.** Qual o perigo do resíduo de detergentes nas vidrarias?
- 9.** Qual a relação tempo/ temperatura utilizadas para esterilização em estufa e em autoclave?
- 10.** Diferencie esterilização de desinfecção?
- 11.** Quais os agentes físicos e químicos utilizados na esterilização e desinfecção?
- 12.** O que é biofilme?
- 13.** Quanto de álcool e de água devemos utilizar para obtenção de 1000 ml de álcool a 70%?
- 14.** Qual a vantagem de se utilizar o álcool a 70% para desinfecção de superfícies?
- 15.** Como calcular a quantidade de cloro para obtenção de uma diluição a 10PPM, sabendo-se que a água sanitária possui 2,5% de cloro ativo?



# Aula 10 – Coleta, transporte e estocagem de amostras para análise

## Objetivo da aula

Ao final da aula você deverá ter condições de:

Conhecer as etapas de coleta, transporte e estocagem de amostras para análise microbiológica visando a qualidade dos resultados obtidos.

## 10.1 Coleta de amostras

A conclusão correta a respeito do lote dependerá da coleta de amostras para avaliação do lote de alimentos processados.

Entende-se por lote uma quantidade de alimento de mesma composição e características químicas, físicas e sensoriais produzidas e manuseadas sob as mesmas condições. O lote pode ser composto de uma quantidade de embalagens unitárias, no caso de alimentos embalados ou porções de determinado peso ou volume, não acondicionados em embalagens individuais.

Uma amostra de lote seria um determinado número de embalagens escolhidas ao acaso para representar o lote que passará a se chamar unidades de amostra. Uma unidade de amostra não representa o lote, qualquer conclusão a respeito do lote depende do conjunto de unidades de amostra.

**Unidade analítica** – é a quantidade de alimento efetivamente utilizada na análise de uma unidade de amostra.

Qualquer falha na coleta, transporte e estocagem da amostra resultará em um falso resultado analítico.

## 10.2 Coleta de amostra para análise

Dos cuidados especiais tomados na coleta de amostra para análise microbiológica, dependem a validade e a interpretação dos resultados laboratoriais.

### 10.2.1 As normas técnicas a serem seguidas

- a) Planejamento para um perfeito sincronismo entre a coleta/remessa e a capacidade do laboratório em executar as análises.
- b) Coleta das amostras, sempre que for possível, em suas embalagens originais e em quantidade nunca inferior a 100g ou 100ml.
- c) Na impossibilidade de atender o item anterior, a coleta da amostra deve ser feita em condições assépticas.
- d) Deve-se proceder a limpeza e a desinfecção da embalagem do alimento a ser analisado, com solução de álcool iodado ou outro desinfetante, abrangendo uma área que alcance pelo menos 10cm da extremidade da abertura. No caso da embalagem com tampa descartável, deve-se proceder da mesma forma acima. Quando tratar-se de recipiente hermeticamente fechado, a borda não codificada deste deve ficar posicionada para cima, na qual se faz a assepsia. Usa-se um abridor de latas previamente esterilizado.
- e) Acondicionamento da amostra, quando retirada da embalagem original, deve ser feito em recipiente íntegro, previamente esterilizado e identificado, capaz de resguardar de qualquer alteração utilizando fechamento que não pode ser violado.
- f) Sempre que possível e/ou necessário, a amostra deve estar acompanhada de um relatório consignado local, hora e método da coleta, lote da partida e número que as constitui, bem como informações que possam orientar a execução e interpretação dos resultados.
- g) Providências especiais deverão ser tomadas para que o tempo decorrido entre a coleta da amostra e a execução das análises seja o menor possível.
- h) As amostras devem ser mantidas em condições que impeçam o desenvolvimento de microrganismos, sem contudo impedir que estes continuem viáveis até o momento da análise. Assim, os alimentos deterioráveis devem ser mantidos sob refrigeração e os desidratados em lugar fresco e seco.

Ostras, mexilhões, mariscos (moluscos de concha) devem ser analisados dentro de no máximo 6 horas após a coleta, não devendo ser congelada.

Amostras de água, em geral, devem ser mantidas sob refrigeração e analisadas dentro de no máximo 30 horas após a coleta, não devendo ser congelada.

### **10.2.2 Transporte e estocagem de amostra para análise**

- a) Deve-se transportar e estocar amostras de alimentos da mesma forma como o produto é transportado e estocado na sua comercialização.
- b) Alimentos comercialmente estéreis em embalagens herméticas podem ser transportados e estocados à temperatura ambiente, devendo ser protegido contra exposição a temperaturas superiores a 45°C.
- c) Alimentos com baixa atividade de água (desidratados, secos ou concentrados) podem ser transportados e estocados a temperatura ambiente e protegidos contra a umidade.

Latas estufadas devem ser transportadas e mantidas sobre refrigeração.

Alimentos perecíveis, comercializados de forma refrigerada ou congelada, devem ser transportados na condição da coleta e transportados em caixas de isopor com gelo dentro de sacos plásticos, para evitar acúmulo de líquido na caixa. Recomenda-se que a estocagem seja nas mesmas condições de coleta e no caso dos refrigerados o tempo decorrido entre a coleta e a análise não deve ultrapassar 36 horas.

## **Resumo**

Nesta aula você conheceu as etapas de coleta, transporte e estocagem de Amostras para análise microbiológica visando a qualidade dos resultados obtidos.

## **Atividades de aprendizagem**

1. Diferencie lote de unidade de amostra.
2. Como pode ser composto o lote?
3. O Que é unidade analítica?
4. Qual da importância da correta coleta de amostra?
5. Como deve-se proceder a coleta de amostra?
6. Como deve-se transportar e estocar a amostra?

# Aula 11 – Contagem total de microrganismos em placas

## Objetivo da aula

Aprender sobre o método de contagem total de microrganismos em placas.

## 11.1 Contagem total de microrganismos em placas

A contagem de microrganismos em placas é um método utilizado para contagem de grupos microbianos em geral, tais como os aeróbios mesófilos, aeróbios psicrófilos, bolores e leveduras e os clostrídios sulfito redutores. É utilizado ainda para a contagem de gêneros e espécies específicas, desde que utilizado um meio seletivo específico para cada gênero, a exemplo de contagem de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus* e outros.

O método de contagem total em placas se baseia na premissa de que cada colônia microbiana formada é originária de uma célula ou de uma unidade formadora de colônia presente em uma amostra do alimento.

Variando o tipo de meio de cultura (enriquecido, seletivo, seletivo diferencial) e as condições de incubação (temperatura e atmosfera) é possível selecionar o grupo, gênero ou espécie que se deseja contar.

## 11.2 Diluição de amostra e plaqueamento em profundidade

### 11.2.1 Preparo de diluições

Para obtenção da diluição inicial (1/10), procede-se do seguinte modo:

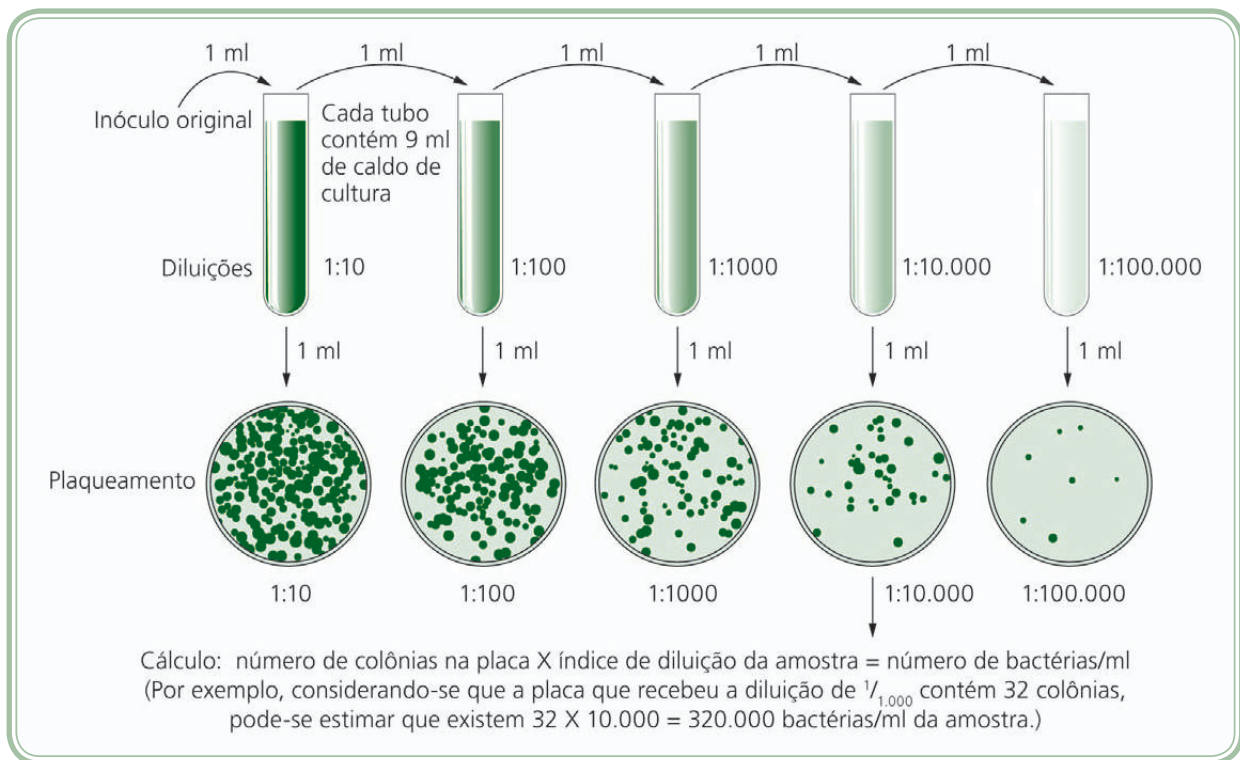
1. Retirar assepticamente porções de 25g ou 25ml da amostra colocando-se em homogeneizadores esterilizados.
2. Adicionar 225ml do diluente escolhido (solução salina a 0,85% ou solução salina peptonada).



3. Preparar as diluições necessárias,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , a partir da diluição  $10^{-1}$ , da amostra preparada anteriormente, transferindo 1ml da diluição inicial para tubos com 9ml de solução salina peptonada e homogeneizar.
4. Homogeneização:
  - a) a diluição  $10^{-1}$  deve ser ressuspensa no liquidificador por 15 segundos antes de ser feita a diluição a  $10^{-2}$  e a semeadura;
  - b) para fazer as diluições subsequentes e as semeaduras, ressuspender por 10 segundos em agitador. Na ausência do agitador, aspirar e soltar a suspensão 15 vezes com pipeta.
5. Distribuir 1ml de cada diluição no centro de placas de Petri estéreis adicionando-se cerca de 15ml de Agar padrão para contagem fundido e resfriado a  $45^{\circ}\text{C}$ . Em superfície plana, submeter à placa a duas séries alternadas de cinco movimentos de vai e vem e cinco movimentos rotatórios, deixar solidificar.
6. Incubar as placas invertidas a  $36\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 48 horas.

### Observação

Recomenda-se para amostras de produtos com expectativa de problema, e em repetições necessárias, que a contagem padrão em placas seja efetuada com utilização de placas em duplicata, nas várias diluições.

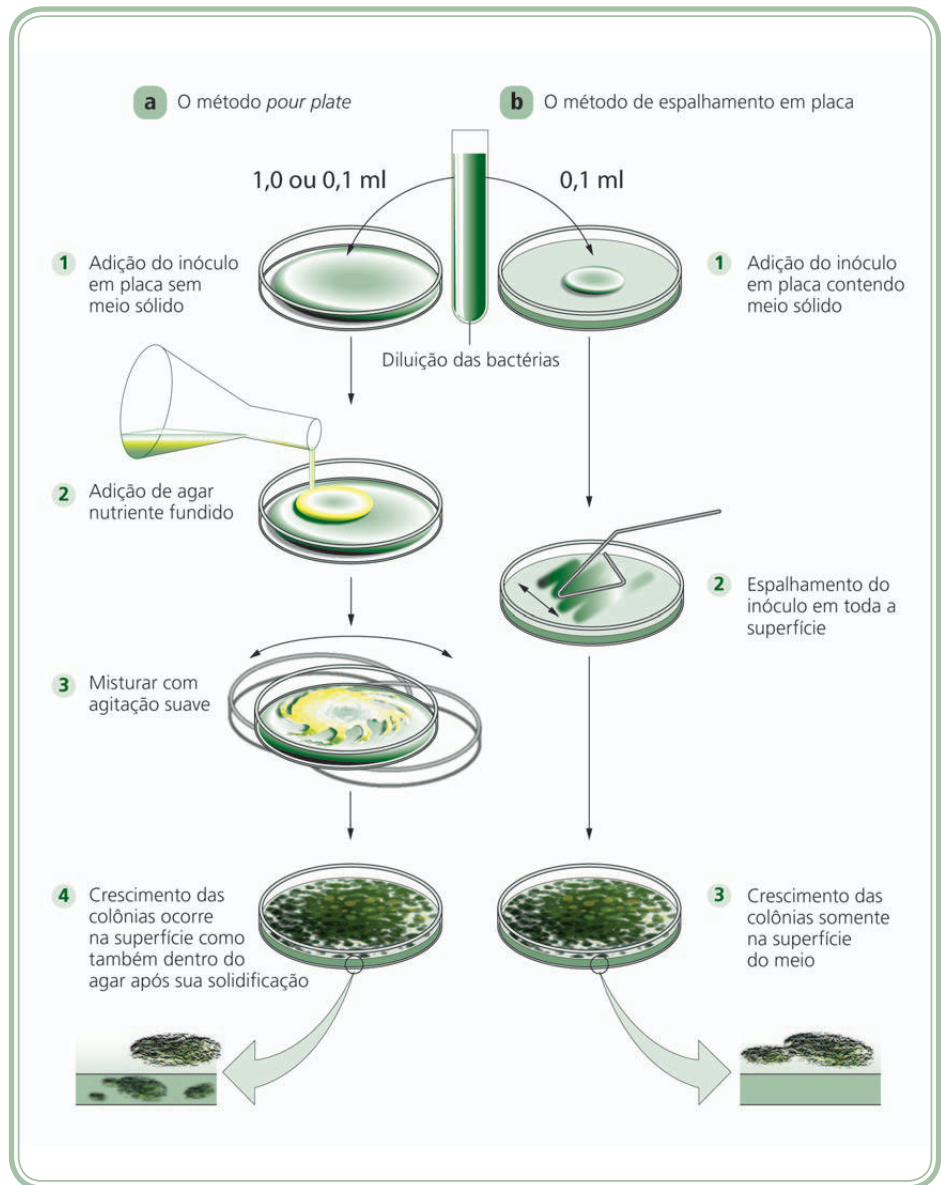


**Figura 11.1: Contagem em placa e diluições seriadas**

Na contaminação, os microrganismos chegam ao alimento espontaneamente e na inoculação a cultura microbiana é adicionada intencionalmente ao alimento, visando uma alteração desejada.

### 11.2.2 Obtenção dos resultados

- Serão consideradas significativas a contagens das diluições que apresentarem entre 30 e 300 colônias.
- Para calcular o número de unidade formadora de colônia (UFC) por grama do produto, multiplicar o número significativo encontrado, pelo fator de diluição correspondente:
  - a) Leituras abaixo de 30 colônias na menor diluição ( $10^{-1}$ ), expressar como abaixo de 300 UFC/grama.
  - b) Ausência de crescimento em  $10^{-1}$ , expressar como abaixo de 10 UFC/grama.
  - c) Leituras acima de 300 colônias na maior diluição expressa como maior de  $300 \times 10^{-4}$  UFC/gramas.
  - d) Leituras entre 30 e 300 colônias, expressar o resultado multiplicando-se o valor encontrado pelo fator de diluição correspondente.



**Figura 11.2: Metodologia utilizada para a contagem de colônia em placas. (a) o método pour plate. (b) o método de espalhamento em placa**

### Observação

Para contagem em duplicata, na obtenção dos resultados, utilizar a média das contagens nas placas que apresentarem entre 30 e 300 colônias.

Exemplo de expressão de resultado

Número de colônias contadas na diluição de  $10^{-3} = 250$

Resultados:  $2,5 \times 10^5$  UFC/grama.

### Observação

O procedimento para pesquisa de termófilos é o mesmo descrito para mesófilos, variando o tempo e a temperatura de incubação:

- a) psicotrófilos.....2 a 8°C/10dias
- a) termófilos.....55+\_10°C/48horas

A contagem total de microrganismos pode ainda ser feita através do método de plaqueamento em superfície e pelo método de planejamento em gotas.

## Resumo

Nesta aula você aprendeu como se faz a contagem de microrganismos em placas, que é um método utilizado para contagem de grupos microbianos em geral, tais como os aeróbios mesófilos, aeróbios psicrófilos, bolores e leveduras e os clostrídios sulfito redutores. É utilizado ainda para a contagem de gêneros e espécies específicas, desde que utilizado um meio seletivo específico para cada gênero, a exemplo de contagem de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus* e outros.

## Atividades de aprendizagem

1. O que é o método de contagem em placas?
2. Em que se baseia o método?
3. Como proceder para isolar grupos, gêneros ou espécies de microrganismos no método de contagem em placas?

4. O que são UFC? Para que se faz diluições de amostras?
5. Qual a faixa de UFC que se deve fazer a contagem?
6. Quais as temperaturas de incubação para mesófilos, termófilos e psicrófilos?

## Referências

- JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Artmed, 2005.
- PELCZAR, Michael J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, G. **Microbiologia dos conceitos e aplicações**. São Paulo: Macron Books, 1966. v 1 e 2.
- STANIER, R. Y.; DOUDOROFF, M.; ADELBERG, E. A. **Mundo dos micróbios**. São Paulo: Edgard Blücher, 1976.
- HOITMAN, J.; TRAVASSOS, L. J. **Tratado de microbiologia**. São Paulo: Manole, 1971. v 1.
- PELCZAR, Michael J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, G. **Microbiologia dos conceitos e aplicações**. São Paulo: Macron Books, 1966. v 1 e 2.
- TORTORA, Gerard J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000.
- DAVIS, B. D. **Microbiologia, fisiologia bacteriana**. São Paulo: Edart, 1973. v 1.
- JORGE, A. O. C. **Princípios de microbiologia e imunologia**. São Paulo: Ed. Santos, 2006.
- TRABULSI, L. R.; TOLEDO, M. R. F. **Microbiologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1991.
- JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Artmed, 2005.
- FORSYTLE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. São Paulo: Artmed, 2002.
- SILVA JÚNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico sanitário em alimentos**. São Paulo: Varela, 2001.
- FORSYTLE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. São Paulo: Artmed, 2002.
- SILVA JÚNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico sanitário em alimentos**. São Paulo: Varela, 2001.
- FORSYTLE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. São Paulo: Artmed, 2002.
- SILVA JÚNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico sanitário em alimentos**. São Paulo: Varela, 2001.
- DAVIS. B. D. **Microbiologia, fisiologia bacteriana**. São Paulo: Edart, 1973. v 1.
- FORSYTLE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. São Paulo: Artmed, 2002.

HOITMAN, J.; TRAVASSOS, L. J. **Tratado de microbiologia**. São Paulo: Manole, 1971. v 1.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Artmed, 2005.

JORGE, A. O. C. **Princípios de microbiologia e imunologia**. São Paulo: Ed. Santos, 2006.

PELCZAR, Michael J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, G. **Microbiologia dos conceitos e aplicações**. São Paulo: Macron Books, 1966. v 1 e 2.

RUIZ, R. L. **Microbiologia zootécnica**. São Paulo: Roca, 1992.

SILVA JÚNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico sanitário em alimentos**. São Paulo: Varela, 2001.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000.

TRABULSI, L. R.; TOLEDO, M. R. F. **Microbiologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1991.

## **Currículo do professor-autor**

Possui graduação em Nutrição pela Universidade Federal de Pernambuco (1977), mestrado em Nutrição pela Universidade Federal de Pernambuco (1987) e doutorado em Nutrição área de concentração ciência dos alimentos pela Universidade Federal de Pernambuco (1994). Atualmente é professora associado nível 1 da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Tem experiência na área de Microbiologia, com ênfase em Microbiologia de alimentos e cozinha brasileira, atuando principalmente nos seguintes temas: microbiologia e segurança do alimento, tecnologia na produção de alimentos, origem da culinária brasileira



