

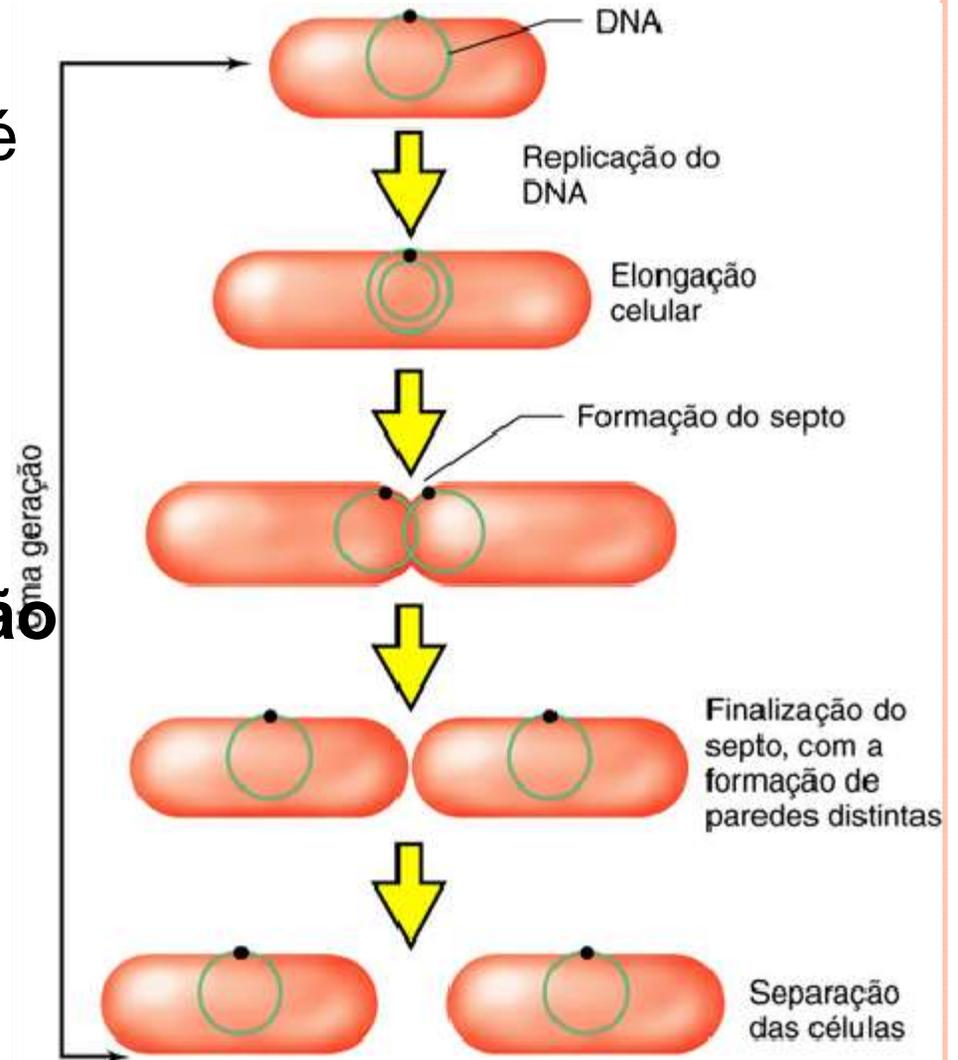
A microscopic view of a dense population of white, spherical microorganisms, likely yeast or mold spores, arranged in a somewhat regular pattern. The organisms are small and round, with some showing slight indentations or structures on their surface. The background is a light, neutral color, making the white organisms stand out.

CRESCIMENTO MICROBIANO

CRESCIMENTO MICROBIANO

Em microbiologia crescimento geralmente é o aumento do número de células;

Na maioria dos procariotos ocorre a **fissão binária**: crescimento e divisão.



CRESCIMENTO POPULACIONAL

VARIAÇÃO DO NÚMERO DE CÉLULAS OU DA MASSA CELULAR POR UNIDADE DE TEMPO

Durante o ciclo de divisão celular, todos os componentes estruturais de uma célula são **DUPLICADOS**.

O intervalo em que uma célula origina duas novas é denominado **GERAÇÃO** – o tempo necessário para que isso ocorra é denominado **TEMPO DE GERAÇÃO**.

VARIAM DENTRE OS ORGANISMOS E CONDIÇÕES AMBIENTAIS



PARÂMETROS DE CRESCIMENTO

Tratando-se **bactérias, algas unicelulares e leveduras** que se multiplicam por **divisão binária**, temos:

$$2^1 > 2^2 > 2^3 > 2^4$$

$$N = N_0 \cdot 2^n$$

Onde **N** = n° microrganismos ao fim de **n** divisões

N₀ é o número inicial

O número de gerações será:

$$n = 3,3(\log N - \log N_0)$$

A velocidade exponencial de crescimento (**R**) é expressa pelo número de divisões no tempo:

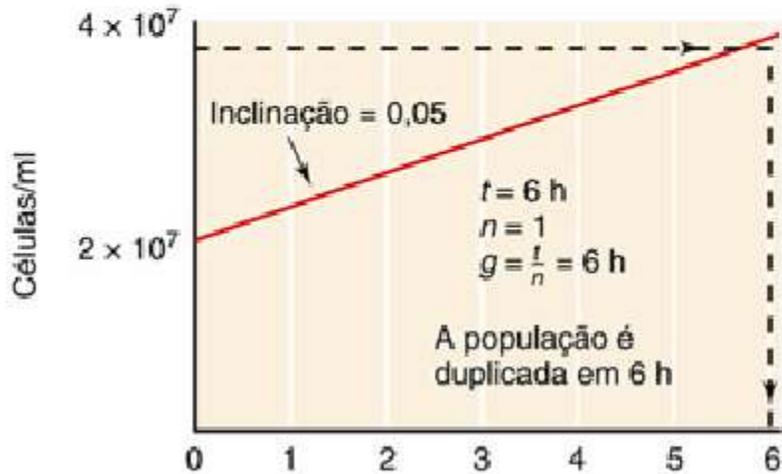
$$R = \frac{n}{t - t_0}$$

A recíproca de R é o tempo de geração:

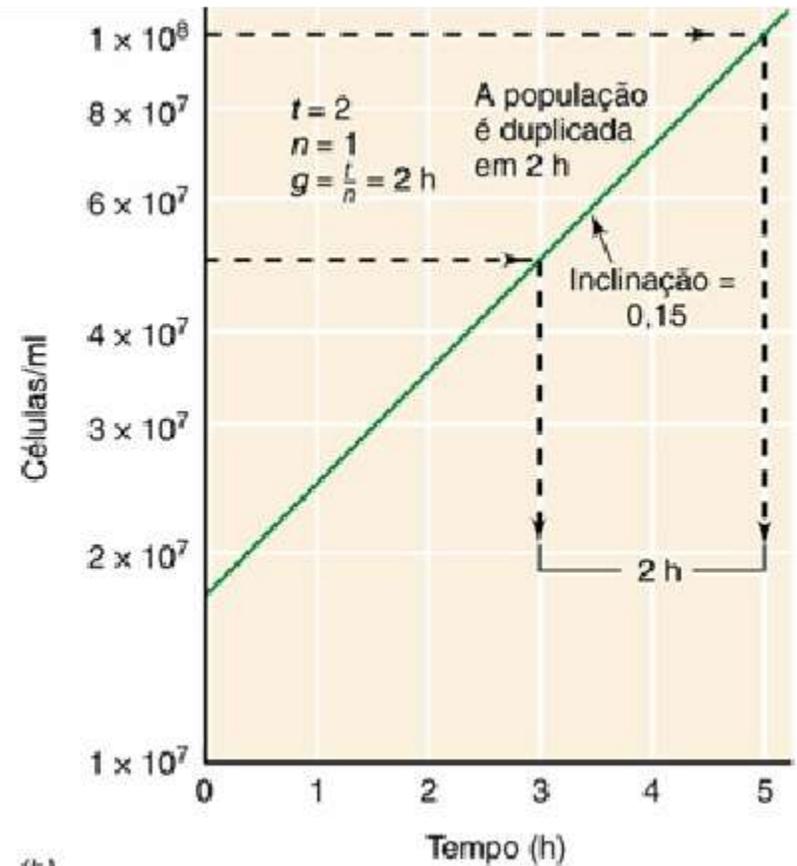
$$G = \frac{1}{R} = \frac{t - t_0}{n}$$



PARÂMETROS DE CRESCIMENTO



(a)



(b)

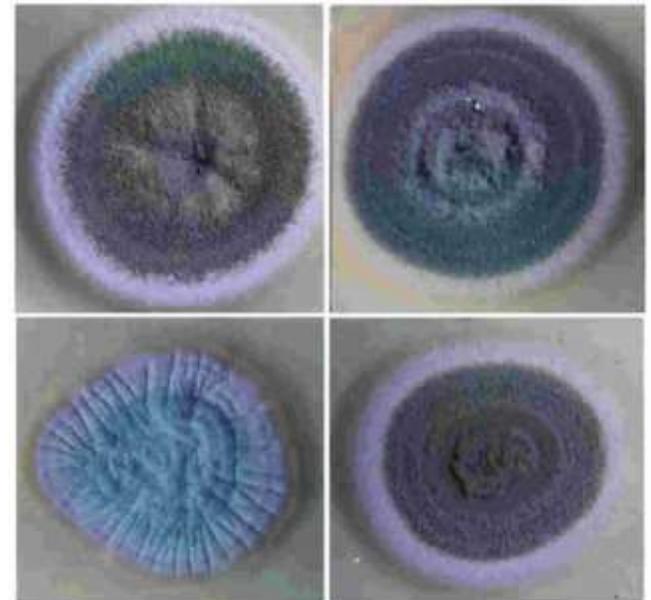


PARÂMETROS DE CRESCIMENTO

Essas equações não se aplicam
**a microrganismos
filamentosos,**

assim, é mais conveniente aplicar-se
uma equação mais geral, onde se
considera a variação da massa (**X**), em
função do tempo como sendo
proporcional a concentração de
biomassa presente:

$$\frac{dX}{dt} = \mu X$$

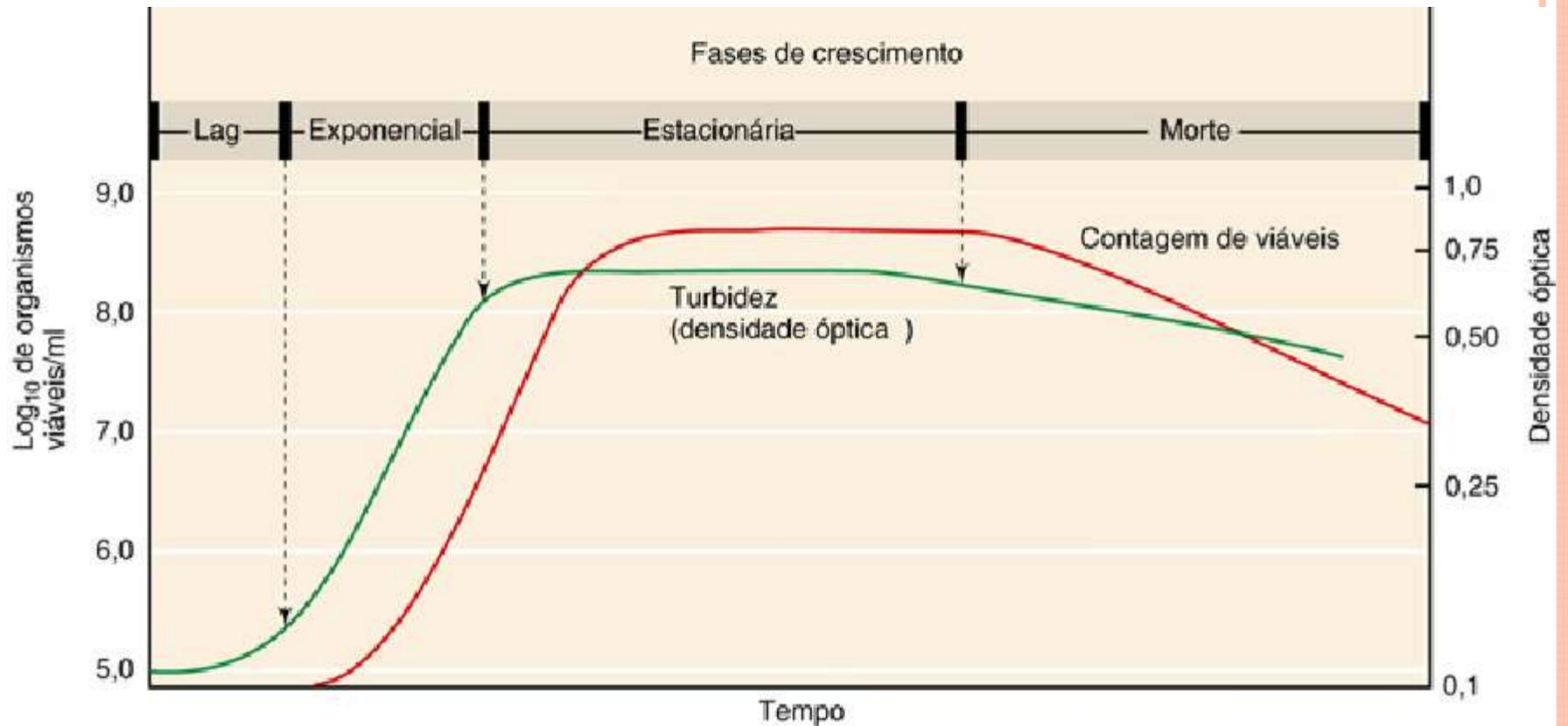


CICLO DE CRESCIMENTO

- | A **fase exponencial** reflete apenas uma parte do ciclo de crescimento de uma população microbiana;
- | O crescimento de microrganismos em um **recipiente fechado (batelada)** apresenta um ciclo típico com todas as fases de crescimento.



CICLO DE CRESCIMENTO



Fase Lag

Período de adaptação da cultura

- | Mudança de meio, preparação do complexo enzimático
- | Reparação das células com danos.



Fase exponencial

Fase mais saudável das células onde todas estão se dividindo.

| A maioria dos microrganismos unicelulares apresentam essa fase, mas as velocidades de crescimento são bastante variáveis:

- Procarióticos – crescem mais rapidamente que os eucarióticos

- Eucarióticos menores crescem mais rapidamente que os maiores



Fase estacionária:

Num sistema fechado (tubo, frasco ou biorreator) o crescimento exponencial não pode ocorrer indefinidamente.

- | Ocorre a limitação por depleção de nutrientes e acúmulo de metabólitos.

Divisão = morte | crescimento líquido nulo

- | **Ainda pode ocorrer:** catabolismo e produção de metabólitos secundários



Fase de morte (declínio):

- | A manutenção de uma cultura no estado estacionário por longo tempo conduz as células ao processo de morte.
- A morte celular é acompanhada da lise celular

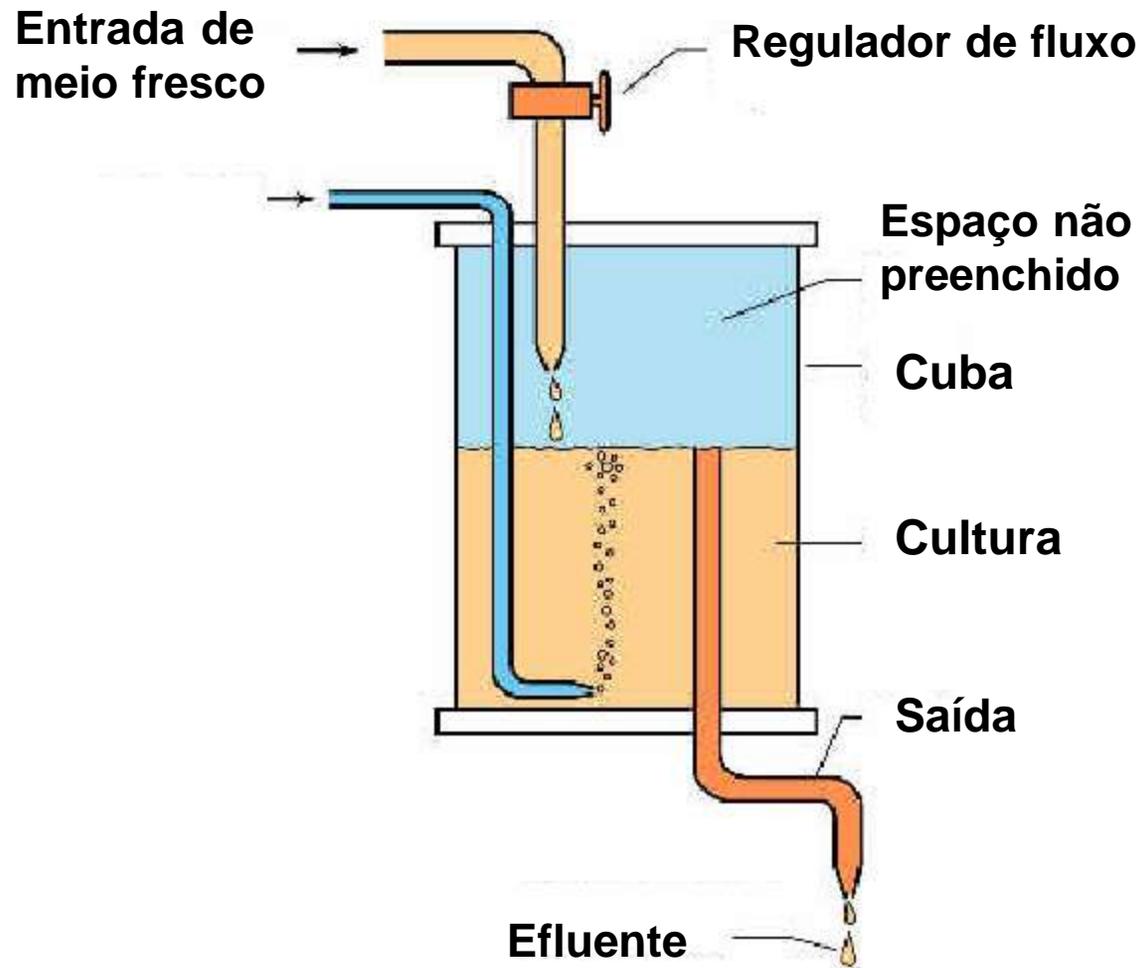


CULTIVO CONTÍNUO

- | Técnica muito usada nos processos industriais de obtenção de produtos microbiológicos;
- | Manutenção das células em **fase log ou estacionária**;
- | Utilizam-se fermentadores ou quimiostatos - crescimento em equilíbrio dinâmico;
- | Controle da densidade populacional e da taxa de crescimento, pela concentração do nutriente limitante (fonte de C ou N) e pela taxa de fluxo (taxa de diluição);
- | Em baixas concentrações do nutriente limitante, a taxa de crescimento é proporcional à concentração do nutriente (que é virtualmente zero).



CULTIVO CONTINUO - QUIMIOSTATO

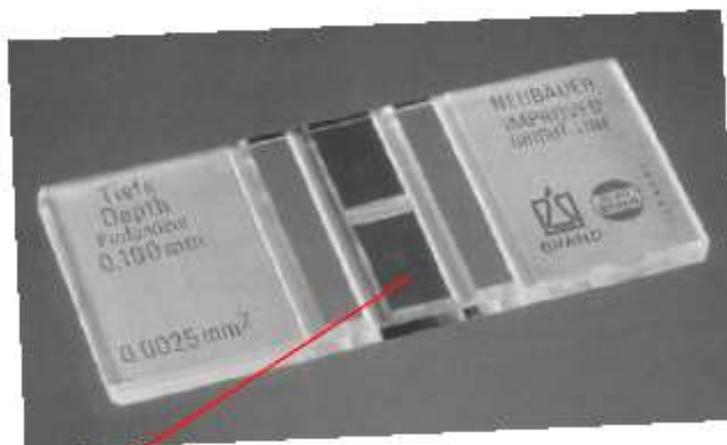


MEDIDAS DE CRESCIMENTO MICROBIANO

- | Vários métodos podem ser empregados na contagem do número total de células ou na mensuração da massa celular – adaptáveis a diferentes organismos ou situações.
- | AVALIAÇÃO DIRETA – contagem de células (microscópio) ou viáveis, filtração e técnica do número mais provável.
- | AVALIAÇÃO INDIRETA – turbidez, atividade metabólica e peso seco.

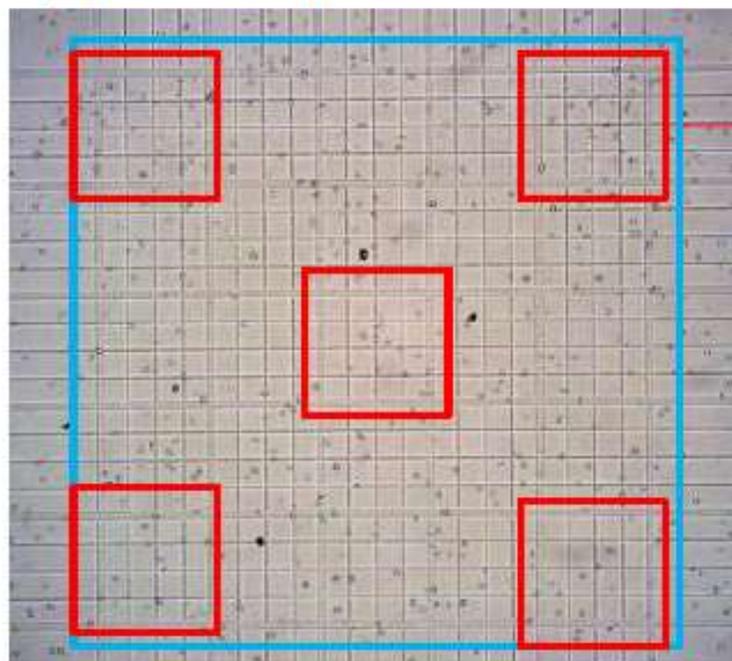


CONTAGEM DIRETA AO MICROSCÓPIO



CÂMARA DE NEUBAUER

Quadrado médio



Ao microscópio – aumento de 100X

Quadrículo



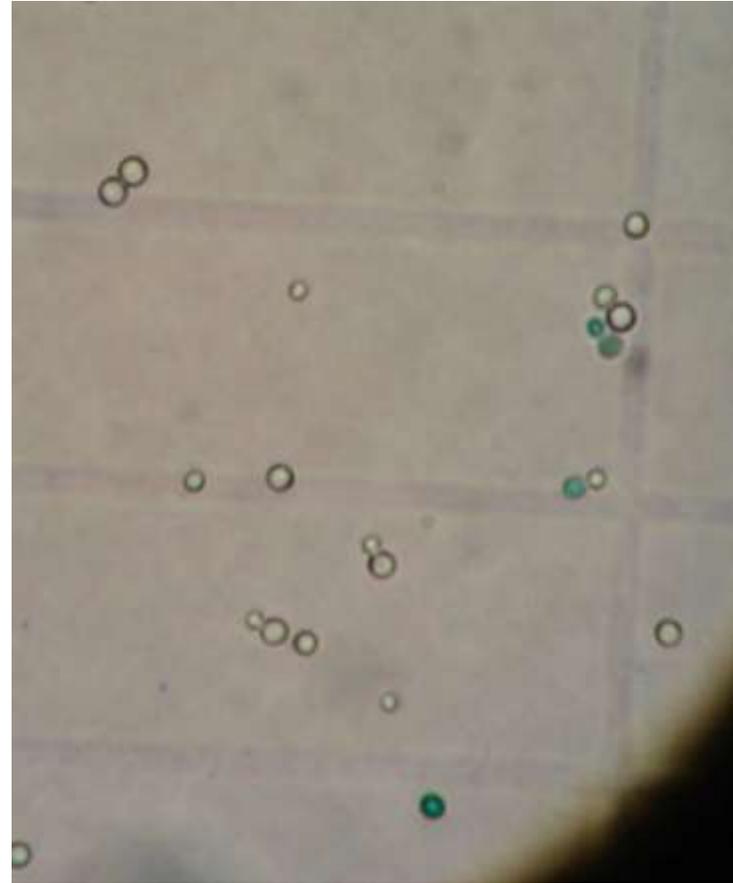
Ao microscópio – aumento de 400X

$$\text{Número de células viáveis/mL} = \left(\frac{\text{Total de células viáveis nos 5 quadrículos}}{5} \right) \times 25 \times \text{Diluição} \times 10^4$$

CONTAGEM DIRETA NO MICROSCÓPIO

Coloração com azul de metileno para evidenciar células viáveis de leveduras

Células azuis estão mortas; células sem coloração são células vivas



Viabilidade (%) = (Número de células vivas / Número de células vivas + células não viáveis) × 100



CONTAGEM DE VIÁVEIS

Método de semeadura por espalhamento



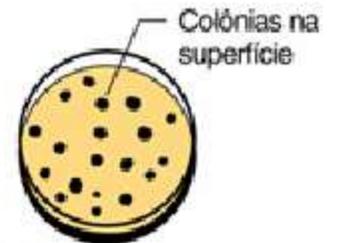
A amostra é depositada na superfície de uma placa de meio sólido (0,1 ml ou menos)



A amostra é espalhada de forma homogênea na superfície do meio com o auxílio de uma alça de vidro estéril



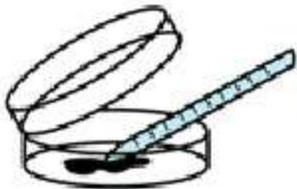
Incubação



Colônias na superfície

Resultado típico de uma semeadura por espalhamento

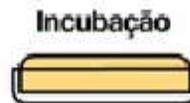
Método de semeadura em profundidade



A amostra é depositada em uma placa estéril



O meio estéril é adicionado e misturado ao inóculo



Incubação



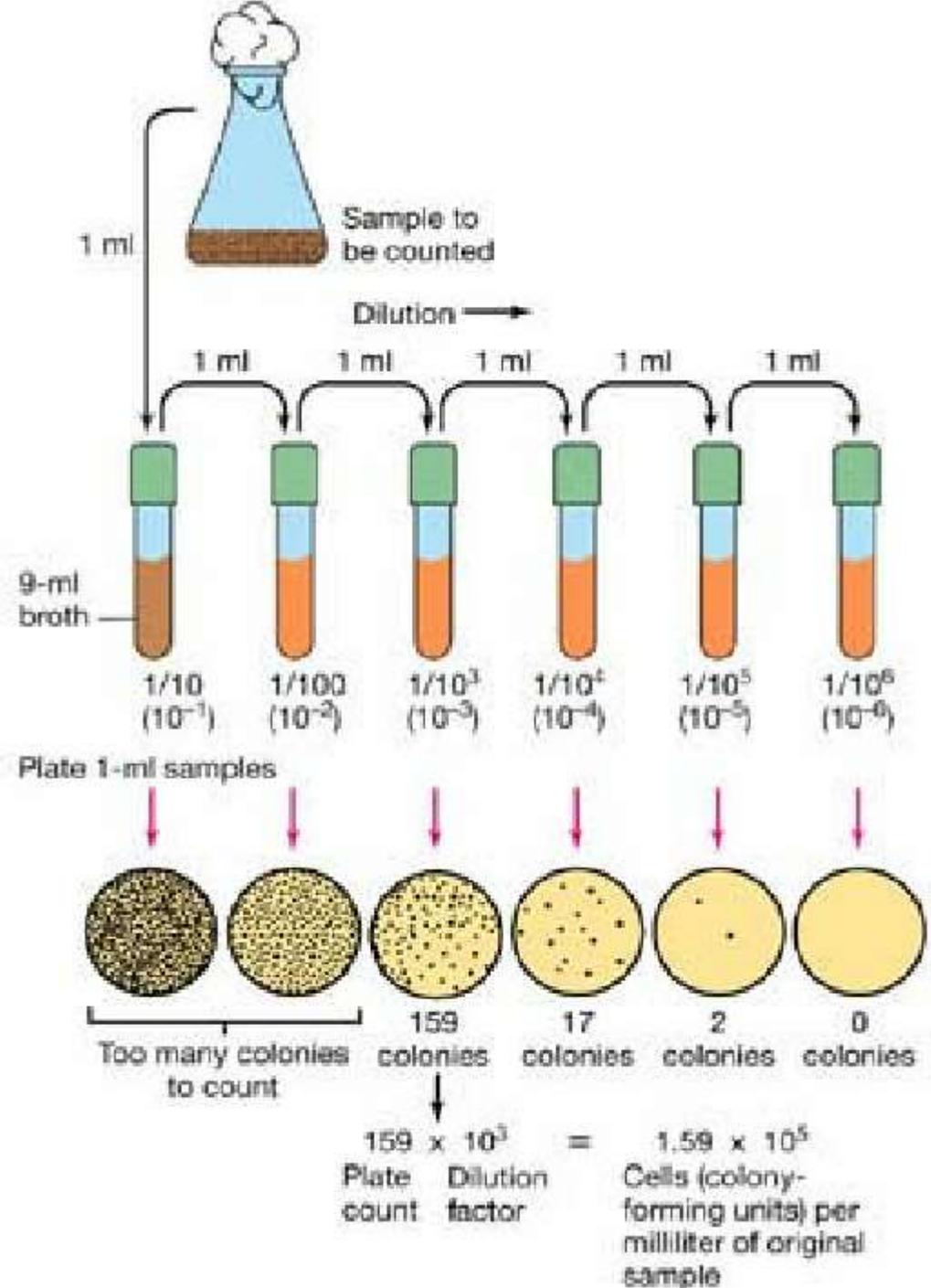
Colônias na superfície

Colônias abaixo da superfície

Resultado típico de uma semeadura em profundidade

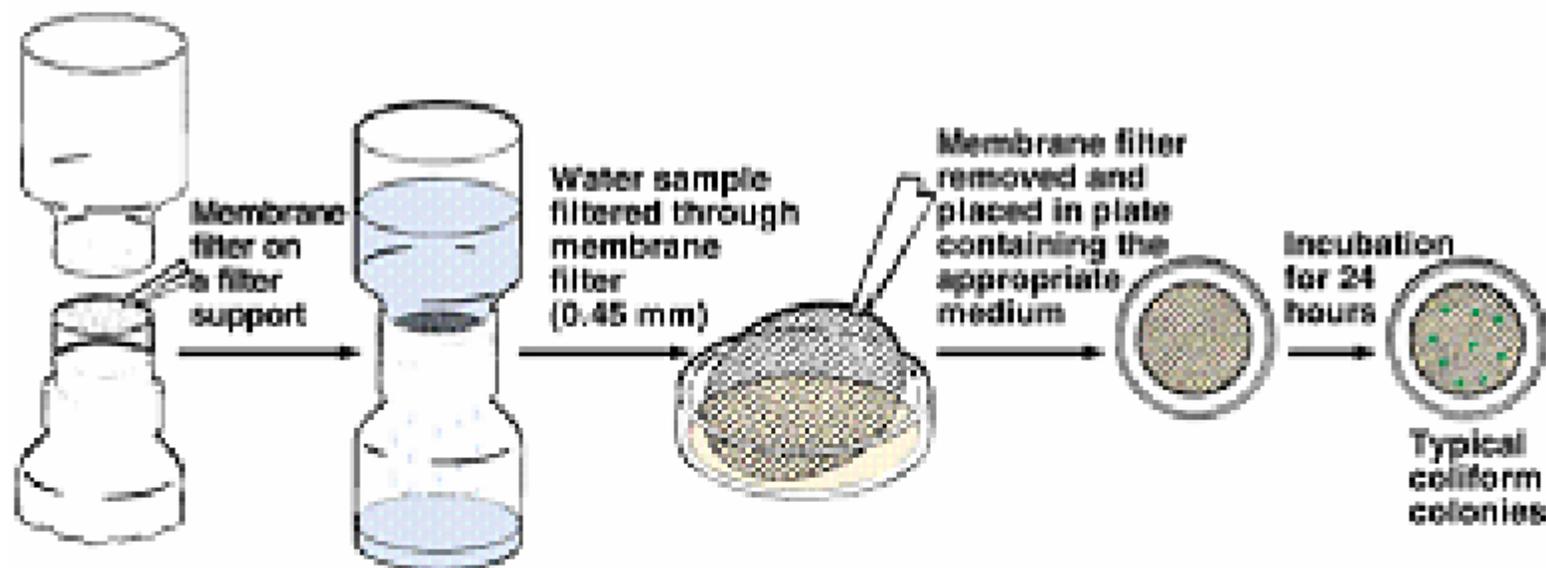


DILUIÇÃO DECIMAL PARA PLAQUEAMENTO

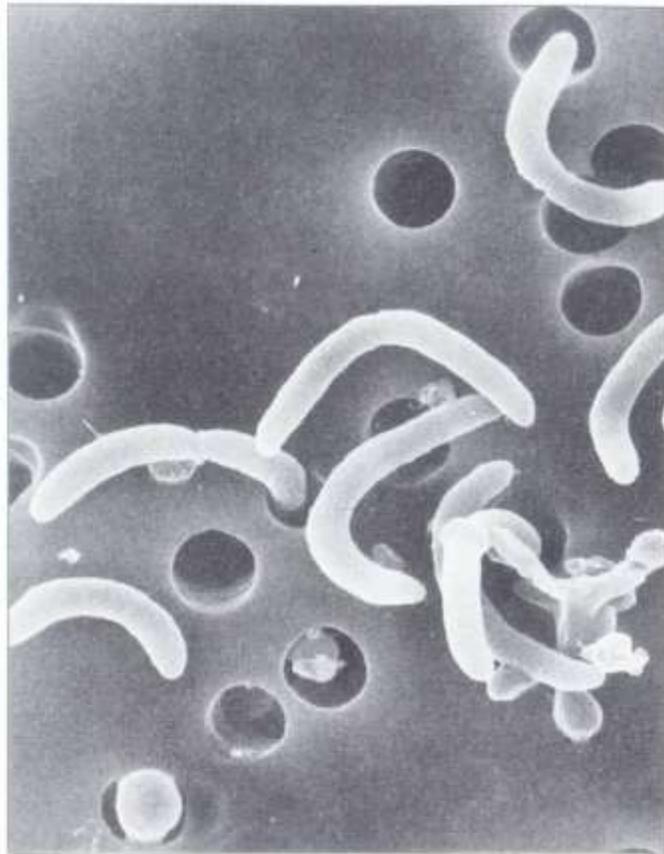


FILTRAÇÃO

Membrane Filtration Procedure



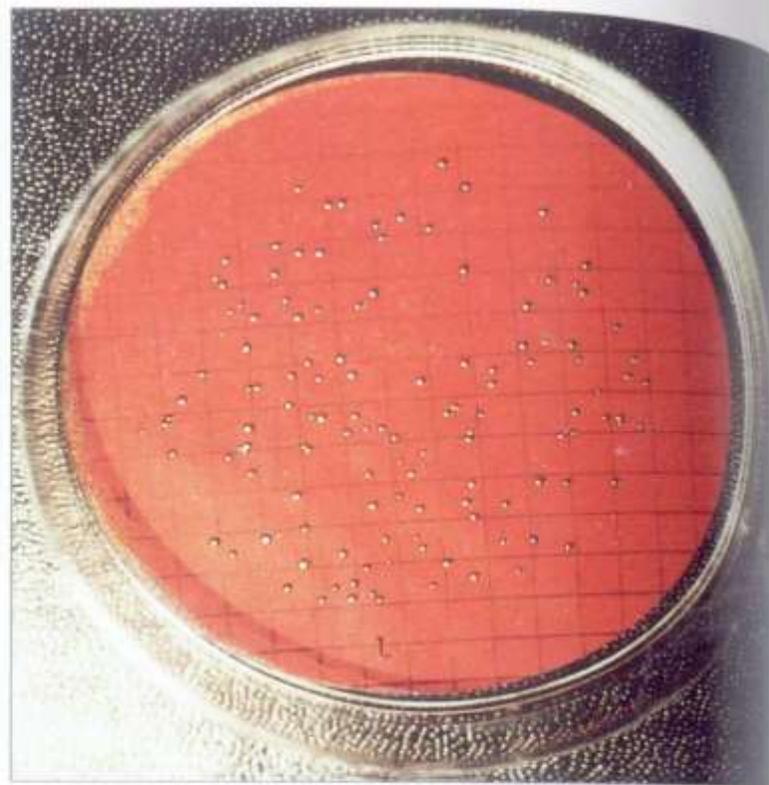
FILTRAÇÃO



(a)

MEV

2 μm



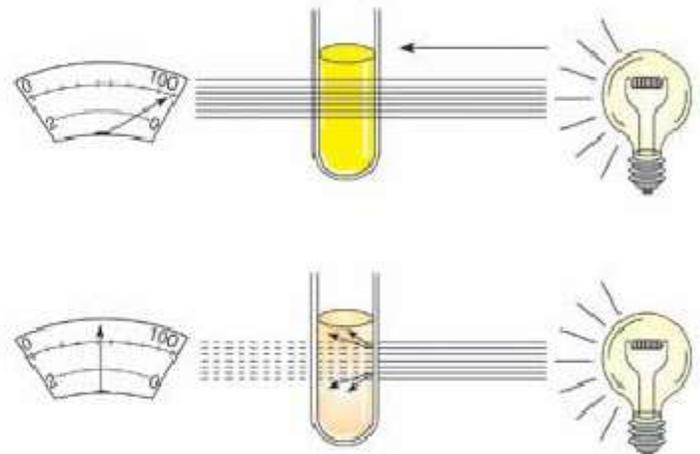
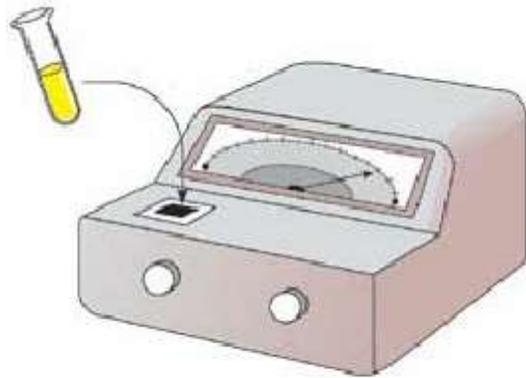
(b)



TURBIDEZ

As células dispersam a luz e quanto mais células, mais turvo é o meio.

Pode ser medida em um espectrofotômetro ou fotômetro.



CURVA PADRÃO

- | Para os organismos unicelulares, as unidades fotométricas ou densidades óticas (DO) são proporcionais (dentro de certos limites) ao número de células.
- | A curva padrão relaciona medidas diretas de número (contagem microscópica ou de viáveis) ou de massa (peso seco) de células, com medidas de turbidez.



PESO SECO

- | É a melhor forma de se analisar o crescimento de FUNGOS FILAMENTOSOS
- | O fungo é removido do meio de cultura por filtração, para eliminar outros materiais, seco em dessecador para pesagem.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- | MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., PARKER, J.
Microbiologia de Brock. São Paulo: Prentice Hall, 2004.
- | PELCZAR, M.J., CHAN, E.C.S., KRIEG, N.R.
Microbiologia. São Paulo: Makron Books, 1996. volumes
1 e 2.
- | TORTORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L.
Microbiologia. Porto Alegre: Artmed, 2000.

