

### Aula Prática 10: PATOGENICIDADE: FATORES DE VIRULÊNCIA

#### A. Isolamento de microrganismos de superfícies diversas

- 1) Desembrulhe um cotonete esterilizado, umedeça-o em solução salina estéril e embrulhe-o novamente.
- 2) Escolha uma superfície dentro do IFSC, passe o cotonete sobre a superfície, embrulhe-o e retorne ao laboratório.
- 3) Utilize o cotonete para semear o material recolhido em um quadrante da placa contendo ágar leite desnatado.
- 4) Com a alça de transferência, semeie o material no restante da placa pelo método de esgotamento.
- 5) Incube a placa a 37 °C por 48 h.

#### B. Isolamento de microrganismos de superfícies corpóreas

- 1) Identifique a **placa 1** como “Superfície corporal externa”.
- 2) Desembrulhe um cotonete esterilizado e umedeça-o em solução salina estéril.
- 3) Passe o cotonete em uma superfície corporal externa (face, pescoço, axila, etc).
- 4) Utilize o cotonete para semear o material recolhido em um quadrante da placa 1 contendo Ágar sangue.
- 5) Com a alça de transferência, semeie o material no restante da placa pelo método de esgotamento. Ao terminar a inoculação com a alça, faça 2 punções no meio para semear o material em profundidade e assim, verificar se haverá crescimento em ambiente menos oxigenado.
- 6) Identifique a **placa 2** como “Superfície mucosa”.
- 7) Repita o mesmo procedimento dos itens “2 a 5”, mas recolhendo material de uma membrana mucosa (nariz, garganta, bochecha, etc) ou superfície dental. Neste caso, não é necessário umedecer previamente o cotonete.
- 8) Incube as placas a 37 °C por 48 h.

#### C. Teste da gelatinase

- 1) Inocule no tubo 1, com o auxílio da agulha de inoculação e em picada central única, o microrganismo da **placa A**.
- 2) Inocule o microrganismo da **placa B** no tubo 2.
- 3) O tubo 3 servirá como tubo controle para análise de possíveis resultados falso-positivos. A gelatina liquefaz a temperaturas superiores a 28 °C.
- 4) Deixe as tampas dos tubos semi-abertas e, incube-os a temperatura ambiente por 24 h – 48 h.
- 5) Após o período de incubação, caso os meios dos 3 tubos estejam liquefeitos, eles deverão ser acondicionados no refrigerador ou no gelo por cerca de 20 min. Após esse período, descreva e justifique os resultados.

#### D. Observação do crescimento de *Enterococcus faecalis* em ágar leite desnatado e de *Staphylococcus aureus* e/ou *Enterococcus faecalis* em ágar sangue

**OBSERVAÇÃO:** As placas foram embrulhadas em plástico, irradiadas com luz UV e se encontram dentro do fluxo laminar. Não retire o plástico e não abra as placas.

- 1) No laboratório, já foram previamente preparadas placas de diferentes linhagens de *E. faecalis* cultivadas em ágar leite desnatado e de *E. faecalis* e/ou *S.aureus* em ágar sangue.
- 2) Observe e descreva, para cada placa, o aspecto das colônias. Qual o significado dos resultados obtidos?

## E. Questões

- 1) O que significa o aparecimento de um halo claro ao redor de colônias de microrganismos crescidos em ágar leite desnatado e em ágar sangue? Quais os mecanismos de ação sobre os componentes dos meios de cultura?
- 2) O que é fator de virulência de um microrganismo e como você pode relacioná-lo aos resultados observados?
- 3) Como pode ser definida a “microbiota normal” de um ser humano? Em quais locais do corpo humano são encontrados microrganismos normalmente residentes?
- 4) Qual a relevância, em termos patogênicos, da produção de gelatinases por uma bactéria?