

Biologia de Microrganismos

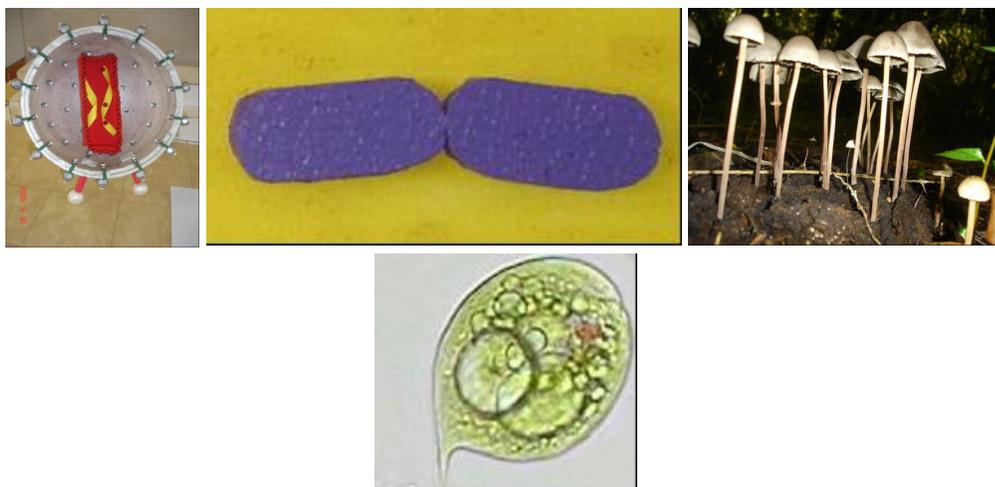
UNIDADE 1 INTRODUÇÃO À MICROBIOLOGIA

Prof. José Soares do Nascimento

1. QUEM SÃO OS MICRORGANISMOS?

Os microrganismos são organismos microscópicos, impossível de serem observados a olho nu (vírus 1nm, bactérias 1 μ m, e fungos 100 μ m de diâmetro). Embora, alguns, em determinadas fases de seu crescimento atinjam tamanho macroscópicos, a exemplo dos fungos conhecidos como cogumelos, que chega a formar um falso tecido. Quem são os microrganismos? Esta é uma curiosidade comum para quem nunca deu atenção a estes seres microscópicos. Os mais estudados na Microbiologia são as bactérias, fungos, vírus e algumas algas (Figura 1). Além destes, protozoários, helmintos, ácaros são estudados em Parasitologia.

Figura 1- Exemplos de microrganismos estudados em Microbiologia: 1. Vírus e 2. Bactérias (modelos didáticos); 3. Fungos (fotografados *in situ*); 4. Algas (através de microscopia).



Fonte: NASCIMENTO, J.S. (2010)

2. OS MICRORGANISMOS SÃO SERES UBÍQUOS

Os microrganismos habitam os mais diversos locais. Esta propriedade é denominada de ubiquidade. Habitam os diferentes ecossistemas, fazem parte da microbiota normal do corpo humano, dos animais e das plantas, aos milhões, em termos de quantidades. Entre estes organismos são estabelecidas relações em diferentes graus de parasitismo, mutualismo e comensalismos. São também patógenos causadores de doenças e deterioração de equipamentos e alimentos, quando não devidamente limpos ou mal armazenados, respectivamente.

PERGUNTAS???



1. Em que partes de sua casa, você acha que tem mais microrganismos e onde existem menos?
2. A galinha vem do ovo. E os microrganismos vêm de onde?

3. MODO DE VIDA DOS MICRORGANISMOS

Todos os microrganismos são benéficos de alguma forma. Entretanto, destes um total de 3% podem causar danos aos demais organismos. Neste sentido, os microrganismos são divididos em diferentes grupos, conforme o seu modo de vida, sendo estes alguns deles:

- a) Sapróbios (saprófitos): comensais ou decompositores de substâncias orgânicas mortas; São também conhecidos como microrganismos recicladores. Entre estes, muitos podem desenvolver o parasitismo facultativo.
- b) Parasitos: causam danos às células vivas de outros organismos. O parasitismo se manifesta em diferentes graus, desde o parasito obrigatório ao hiperparasitismo. No parasitismo obrigatório há uma completa dependência do hospedeiro para a sua multiplicação; no parasitismo múltiplo sobrevive em vários hospedeiros e no parasito facultativo existe outro modo de vida que é o saprofitismo. Já no hiperparasitismo ocorre parasitismo no mesmo grupo.
- c) Simbiontes: estabelecem relações em diferentes graus, desde as mais próximas (simbiose mutualística, onde há interação morfológica e física entre dois organismos, a exemplo dos líquenes e das micorrizas) até as mais antagônicas (tipo de relação onde um deles é prejudicado em detrimento do outro).

FIQUE DE OLHO!!!



Alguns microrganismos são incapazes de causar doenças no hospedeiro, a exemplo da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Os que são oportunistas podem causar doenças na dependência do sistema imunológico do hospedeiro. Outros se comportam de forma facultativa, ou seja, são saprófitos, porém, em determinadas condições tornam-se patógenos. Além destes, existem os que são estritamente patogênicos, onde a presença dele no hospedeiro está sempre associada à doença, como a *Nisseria gonorrhoeae*, causadora da gonorréia.

Para ocorrer uma doença infecciosa é necessário algumas etapas importantes:

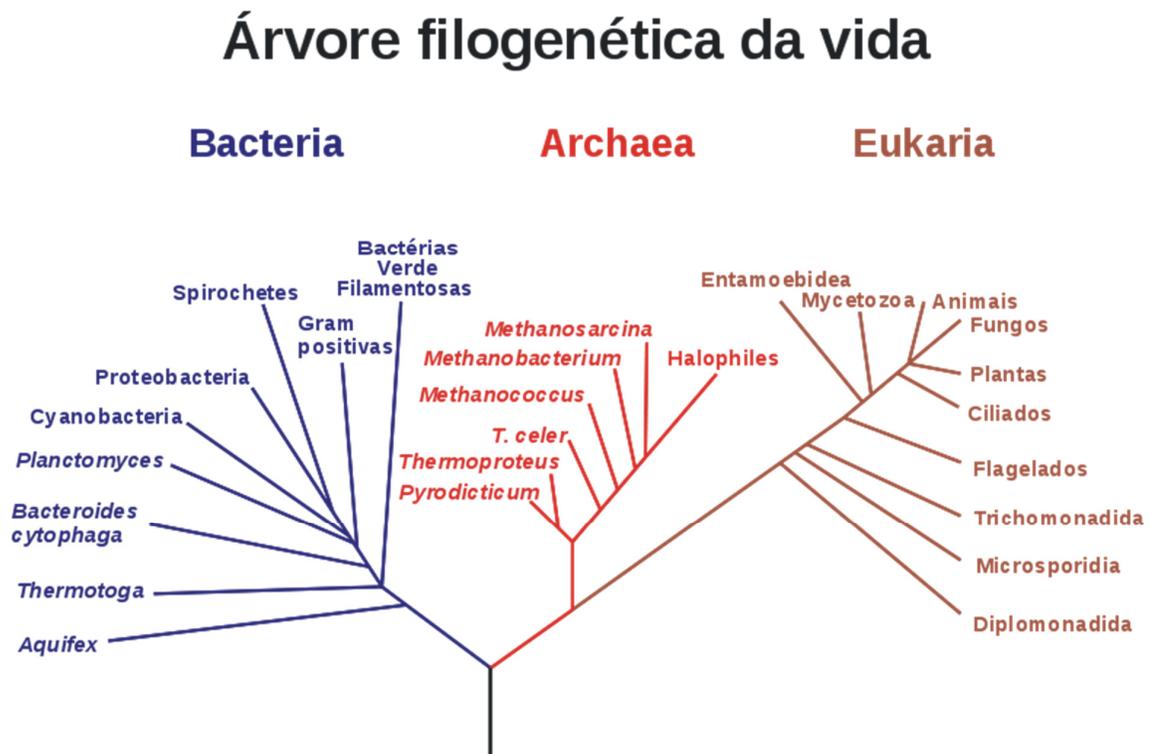
- a) Inóculo: haver um número suficiente de microrganismos capaz de invadir o hospedeiro;
- b) Colonização ou infecção: estabelecimento e multiplicação do microrganismo no local da infecção. A entrada do patógeno/toxina no hospedeiro pode ocorrer diretamente na

- corrente sanguínea ou nos órgãos internos. Pode haver infecção endógena por microrganismos da própria microbiota e exógena por patógenos adquiridos;
- c) Intoxicação: o hospedeiro recebe o fator (ex. toxina) causal da doença, conhecida como intoxicação alimentar;
 - d) O microrganismo pode ser eliminado do hospedeiro por algum mecanismo de defesa e não causar a doença;
 - e) Doença infecciosa: quando o microrganismo passa a expressar seus fatores de patogenicidade (estrutural, enzimas ou toxinas) no hospedeiro, alterando a funcionalidade normal da célula, tecido ou órgãos.

4. CLASSIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS

As bactérias pertencem ao reino Monera segundo a classificação de Whittaker, em 1969. Woese, em 1978, agrupa os organismos em domínios (Figura 2), seguindo a organização filogenética (MURRAY, 2005). Sendo assim, há três domínios: Eubactéria (bactérias verdadeiras), Archaea (bactérias de composição química e formas distintas, habitantes de ambientes extremófilos) e Eucaria (fungos, algas, protistas, plantas e animais).

Figura 2- Os três domínios filogenéticos, segundo Woese (1978).



Fonte: http://pt.wikipedia.org/wiki/%C3%81rvore_filogen%C3%A9tica

UNIDADE 2

MEIOS DE CULTURA UTILIZADOS PELOS MICRORGANISMOS

1. INTRODUÇÃO

Os microrganismos necessitam de uma variedade de substâncias nutritivas capazes de promover o seu crescimento. Esses elementos são necessários para a síntese e para as funções normais dos componentes celulares. No ambiente, os microrganismos encontram os nutrientes nas formas de compostos orgânicos e/ou inorgânicos. Desta forma, podem desenvolver-se em meios inteiramente inorgânicos, outros em meios orgânicos ou mistos.

2. COMPONENTES DOS MEIOS DE CULTURA

Os microrganismos necessitam de fontes de energia, fontes de carbono, fontes de nitrogênio, sais minerais, água, fatores de crescimento (vitaminas e outras substâncias). Estas substâncias são fornecidas a partir de fontes orgânicas e/ou inorgânicas.

Como princípio básico, o meio de cultura deve ser o mais próximo das condições reais onde habita o microrganismo, para que este cresça satisfatoriamente. Existem microrganismos que crescem em diversos meio de cultura, outros crescem apenas em meios especiais. Sendo assim, não existe um meio de cultura universal, de forma que cada microrganismo tem suas exigências nutricionais.

3. CLASSIFICAÇÃO DOS MEIOS DE CULTIVO

3.1. QUANTO À CONSISTÊNCIA

- Meio líquido: sem agente solidificante, apresentando-se como caldo. O meio é distribuído em tubos de ensaio, erlenmeyers, balão; Mais utilizado para o crescimento massal ou provas bioquímicas, em fermentação industrial etc.
- Meio semi-sólido: adiciona-se uma pequena quantidade de agente solidificante (0,5 a 1% de ágar). Apresenta uma consistência intermediária, sendo distribuído em tubos de ensaio. Utilizado para o teste de motilidade, como exemplo.
- Meio sólido: contém maior quantidade de agente solidificante (1,5 a 2,0%). Apresenta uma consistência sólida e pode ser distribuído tanto em tubos de ensaio (meio inclinado), quanto em placas de Petri. Utilizado para diversas finalidades, sendo o meio indicado para observação da morfologia colonial.

A substância solidificante utilizada nos meios é o ágar, extraído de algas vermelhas (*Gelidium corneum* – alga marinha japonesa) a 80°C com ácido sulfúrico diluído (H₂SO₄). Esse é o agente solidificante mais usado, sendo considerado também o melhor, porque se funde à temperatura de fervura e solidifica a 42-45°C. Portanto, deve ser distribuído entre 50-60°C, antes de solidificar. O ágar é ainda um excelente agente gelatinizador porque não é degradado por microrganismos, sendo um polímero composto principalmente por D-galactose, 3,6-anidro-L-galactose e ácido D-glucurônico.

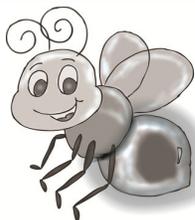
3.2. QUANTO À FUNÇÃO

- Meios simples: meios de cultura, nos quais os componentes possuem todas as fontes de nutrientes requeridas pelos microrganismos mais comuns e menos exigentes nutricionalmente. Ex: ágar nutriente ou caldo nutritivo.
- Meios seletivos: promovem o crescimento de um determinado microrganismo em detrimento de outros, devido à presença de substâncias adicionadas ao meio de cultura ou a condição de cultivo. Alguns meios seletivos possuem corantes na sua composição, feniletanol e antibióticos, que inibem determinados grupos de organismos. Ex: ágar MacConkey (contém sais biliares e cristal violeta para inibir o crescimento de bactérias Gram-positivas, permitindo, portanto, o crescimento de bactérias Gram-negativas); o meio de Chapman ou ágar manitol possui alta concentração de cloreto de sódio (NaCl 7,5%), para selecionar bactérias halófitas (vivem em alta concentração de sal), adequado para o isolamento de *Staphylococcus*; o Meio Sabouraud muito utilizado no cultivo de fungos, devido sua composição desfavorável para bactérias, em função do pH e concentração de açúcares; meio batata-dextrose-ágar (BDA) acidificado que é seletivo apenas para fungos em função do pH.
- Meios enriquecidos: meios convencionais enriquecidos com um ou mais componentes químicos, que favoreça o crescimento de determinados microrganismos numa população mista. Meios mais indicados para microrganismos fastidiosos. Ex: ágar-sangue e ágar chocolate, ambos utilizados no crescimento de *Streptococcus*, *Neisseria* e *Haemophilus*.
- Meios diferenciais ou indicadores: são utilizados para diferenciar microrganismos entre os vários tipos que crescem numa mesma placa de Petri. Ex: meio ágar MacConkey, além de selecionar o grupo de bactérias Gram-negativas como visto por ser seletivo, permite uma diferenciação entre as mesmas pela produção de ácido, baseada na utilização da lactose presente no meio. Bactérias que utilizam a lactose acidificam o meio e as colônias ficam na cor vermelha ou rosa, enquanto as demais não adquirem essa coloração. Meio de Chapman também é um meio diferenciador, pois contém manitol. Quando a bactéria utiliza esse polissacarídeo como fonte de C o meio, originalmente vermelho, muda de cor para amarelo. Entre as espécies de estafilococos apenas *S. aureus* fermenta manitol.
- Meios de transporte: estes meios conservam as características da amostra desde a coleta ao semeio final. Este meio é muito utilizado para bactérias sensíveis ao deslocamento, evitando, muitas vezes a inativação da bactéria, em ambiente longe do laboratório. Ex. meio Stuart.
- Meio de manutenção: utilizado na manutenção de amostras de bactérias. São meios pobres em nutrientes, nos quais as bactérias não podem crescer muito, para evitar a formação de compostos tóxicos.

3.3. QUANTO À NATUREZA

- Natural: são preparados com base em produtos naturais, como: peptona, extrato de carne, soro, leite, folhas, frutos etc. Neste, a quantidade exata de cada nutriente não é especificada.
- Sintéticos: são quimicamente definidos, onde a quantidade exata de cada nutriente ou elemento químico é conhecido, permitindo saber se um elemento em particular é essencial para o crescimento de determinado microrganismo (fator de crescimento).
- Mistos ou semi-sintético: meios preparados com a mistura dos naturais com os sintéticos.

FIQUE LIGADO!!!



- Não existe um meio de cultura universal, ou seja, cada microrganismo tem sua exigência.
- A classificação dos meios de cultura tem fins meramente didáticos. Como observado, um mesmo meio pode ter mais de uma função.

PRÁTICA 1- ISOLAMENTO DE MICRORGANISMOS

1. Materiais:

- Placas de Petri com meios de cultura (sólido).
- “Swab” (zaragatoa) estéril para coleta de microrganismos.
- Água esterilizada em tubo de ensaio.
- Bico de Bunsen

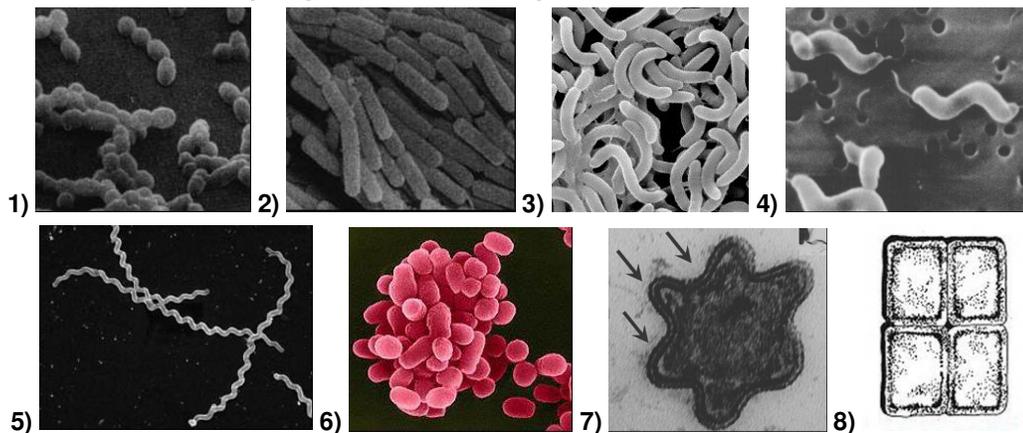
2. Procedimento:

- Umedecer o “swab” na água e preparar para a coleta de microrganismos;
- Selecionar o local específico para coleta, sendo um da microbiota humana e outro do ambiente;
- Coletar os microrganismos ao friccionar suavemente o “swab” sobre o local ou superfície de coleta. Colocar o “swab” de volta no tubo de ensaio;
- Com o bico de Bunsen aceso, próximo à chama, abrir a placa de Petri e semear suavemente, friccionando o “swab” sobre a superfície do meio de cultura;
- Identificar o local de coleta e a data na tampa da placa de Petri;
- Incubar as placas em estufa durante 48h (36°C para as da microbiota humana e 25°C para os do ambiente). As placas são incubadas invertidas, com a base para cima;
- Depois de incubadas, observar a morfologia colonial: diversidade, cor, tamanho, bordas, consistência etc. sem abrir a placa de Petri ou se abrir, sempre próximo ao bico de Bunsen.

UNIDADE 3
MORFOLOGIA MICROBIANA

As bactérias apresentam uma morfologia simplificada, sendo a maioria em formas comuns: cocos, bacilos e espiralados e outras em formas especiais: quadradas e estreladas (Figura 3). Destas, as três primeiras são as mais estudadas, pois compreende as bactérias de interesse na área da saúde e da indústria, sendo as mais comuns. As outras duas formas são de ocorrência ambiental e são raramente notificadas.

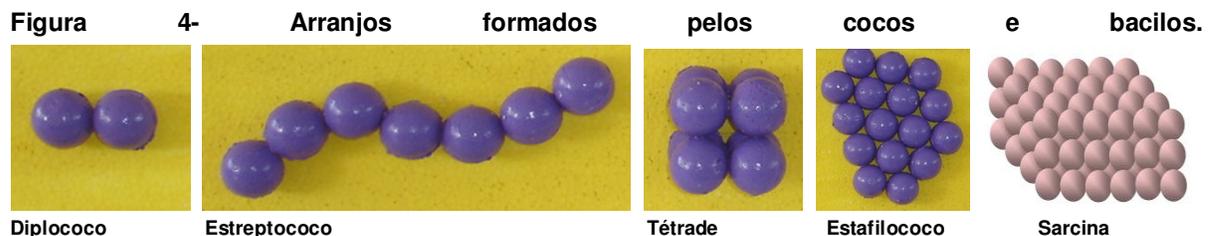
Figura 3- Diversidade da morfologia bacteriana: 1. cocos, 2. bacilos, 3. vírgula, 4. rspirilo, 5. espiroqueta, 5. estrela, 7. quadrada, 8. Cocobacilo



Fonte: TORTORA, FUNKE, CASE (2003).

De natureza unicelular, alguns destes procaríotos podem, em determinadas condições ambientais, se agregar e formar pedúnculo frutificativo ou estruturas reprodutivas diferenciadas da célula vegetativa, a exemplo do que ocorre em *Myxococcus fulvus* e nos actinomicetos, que se assemelham aos fungos no padrão de crescimento.

Os cocos são estruturas esféricas, medindo, em média, 0,5-3µm de diâmetro. Exemplo de cocos: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Neisseria*. Conforme o plano de divisão e as características genéticas os cocos são agrupados em diversos arranjos característicos: a) diplococos: forma cocos aos pares; estreptococos: cocos em cadeia com três ou mais células; c) téttrade: quatro células unidas entre si; d) sarcina: oito células em formato de cubo e, e) estafilococos: cocos em cacho de uvas (Figura 4).

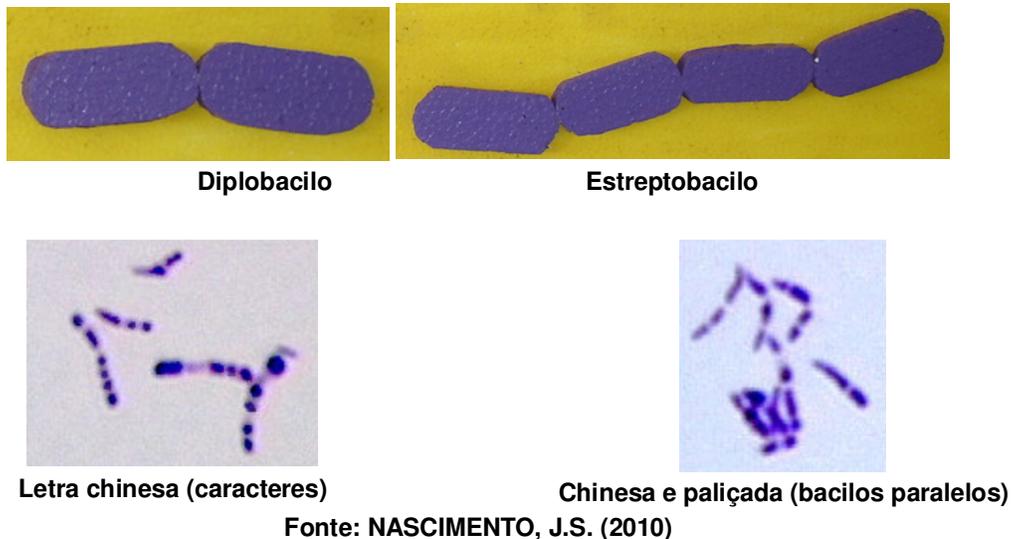


Fonte: NASCIMENTO, J.S. (2010)

Os bacilos são em forma de bastonetes, curtos ou longos, com diâmetro médio de 0,5µm e comprimento variável de 1µm ou mais. Exemplo de bacilos: *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Bacillus*,

Clostridium, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Xanthomonas*. Algumas bactérias apresentam-se na forma de bastonetes curtos, intermediárias entre cocos e bacilos, de aspecto ovóide, denominadas de cocobacilo. Os bacilos apresentam apenas um plano de divisão, os quais formam os arranjos: a) diplobacilo: aos pares e; b) estreptobacilo: com três ou mais células (Figura 5). Além destes arranjos, alguns bacilos se apresentam em forma de letra chinesa e paliçada (*Corynebacterium*). Muitos também não formam arranjos característicos, permanecendo isolados.

Figura 5- Arranjos formados pelos bacilos e os arranjos especiais do Gênero *Corynebacterium*.



As formas espiraladas compreendem: a) vibrião: bacilos curvos em forma de vírgula (*Vibrio cholerae*); b) espirilo: bastonete rígido de forma helicoidal; e c) espiroquetas: também helicoidal, porém com várias espirais e flexível, contendo filamento axial (*Leptospira*, *Treponema*). Os espiroquetídeos dividem-se ao meio e não formam arranjos característicos (Figura 6).

Figura 6- Bactérias espiraladas (espiroquetídeos).



Fontes:

1. <http://dhiez.files.wordpress.com/2008/05/cholera.jpg>
2. http://www.steadyhealth.com/articles/user_files/11361/Image/Helicobacter%20The%20Bacteria%20that%20Cause%20Ulcers.jpg
3. <http://www.japantimes.co.jp/images/photos2008/nn20081021a8a.jpg>

SAIBA MAIS!!!



No ambiente, geralmente, os microrganismos se apresentam isolados.

A maioria das bactérias não forma agrupamentos típicos.

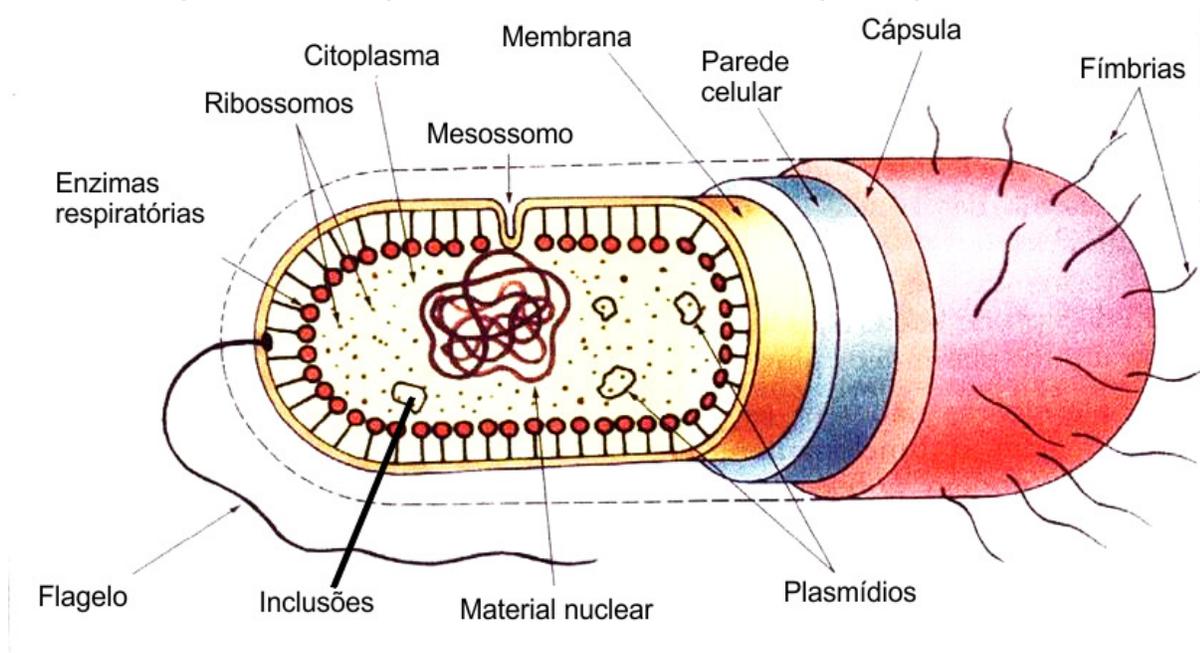
Se na observação microscópica aparecerem cocos isolados e um ou mais em arranjo de dois a dois, trata-se de diplococos.

UNIDADE 4 CITOLOGIA BACTERIANA

1. ESTRUTURAS ESSENCIAIS

As bactérias, por serem procariotos, apresentam uma organização celular simplificada, sem organelas. A principal característica é ter o material genético sem carioteca (Figura 7) e sem histonas, enquanto os eucariotos apresentam tais elementos. É simplesmente constituída por uma parede celular, membrana citoplasmática, citoplasma, material nuclear, ribossomos e as estruturas não essenciais tais como cápsula/glicocálice, flagelo, fímbrias, plasmídeos, endósporo e inclusões. As estruturas essenciais são consideradas como sendo aquelas indispensáveis à multiplicação microbiana, enquanto as estruturas não essenciais são encontradas apenas em algumas bactérias e não interferem na multiplicação das mesmas. Uma exceção são os micoplasmas, que são desprovidos de parede celular, fugindo a regra da essencialidade.

Figura 7- Célula de procarioto, indicando as estruturas que compõe a célula.



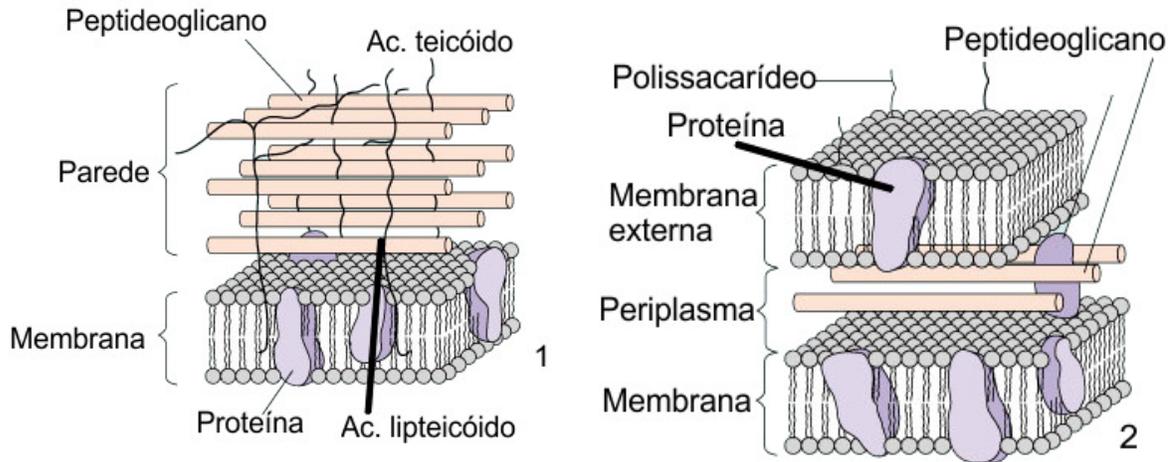
Fonte: MIMS et al. (1995), modificado.

1.1 PAREDE CELULAR

A maioria das bactérias apresenta parede celular, exceto micoplasmas, que são intracelulares. A parede celular é variável em sua composição química o que determina a existência de grupos de bactérias, denominadas de Gram positivas, Gram negativas (Figura 8) e BAAR (bacilo álcool ácido resistente), (Figura 9) entre as mais estudadas.

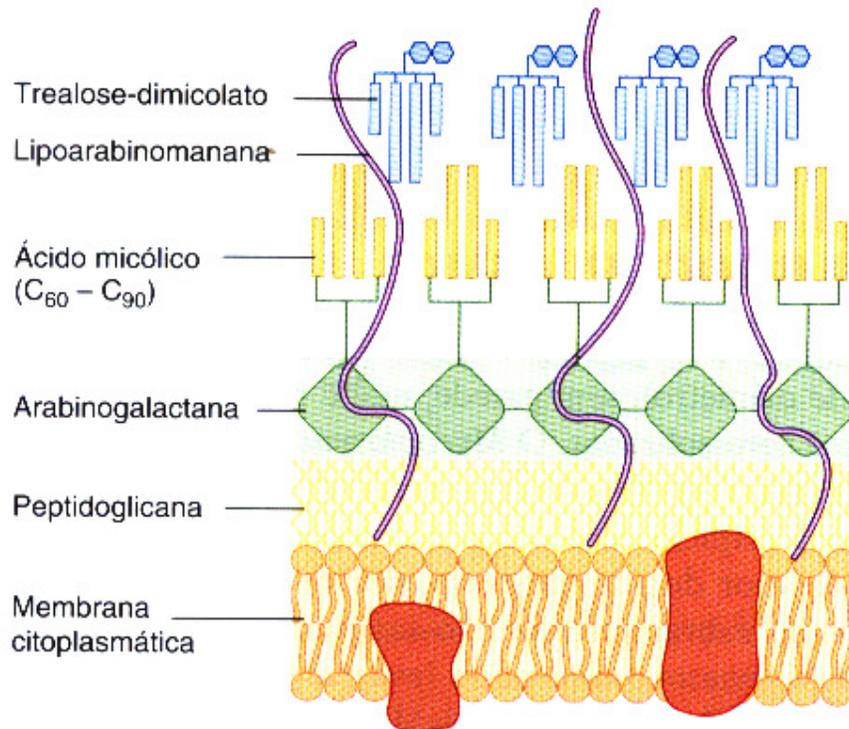
A parede celular é um revestimento rígido que confere forma à célula, maior resistência às adversidades da pressão osmótica e constitui-se uma estrutura antigênica (antígeno O), que caracterizam e diferenciam tais bactérias.

Figura 8- Parede celular de bactéria: 1- Gram positiva, 2- Gram negativa



Fonte: MIMS et al. (1995), modificado.

Figura 9- Parede celular de micobactéria (BAAR).



Fonte: ACTOR (2007), modificado.

As bactérias Gram positivas apresentam uma parede com várias camadas de peptidoglicano (mureína), composta por subunidades alternadas de N-acetilglicosamina (NAG) e N-acilmurâmico (NAM). Estas moléculas são ligadas de forma cruzada por tetrapeptídeos conferindo maior rigidez a parede. Encontra-se ainda na parede o ácido teicóico constituído por um carboidrato fosfato e um álcool (glicerol ou ribitol). A maioria dos cocos de importância clínica (*Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Enterococcus*) é Gram positiva, exceto *Neisseria*, *Bordetella* etc.

A estrutura da parede células das bactérias Gram negativas é mais complexa. Apresenta uma camada mais estreita de peptidoglicano e a membrana externa. O peptidoglicano localiza-se no espaço periplasmático, que compreende o espaço entre a membrana externa e a membrana celular. A membrana externa é um lipopolissacarídeo (LPS), sendo a porção lipídica uma endotoxina comum a todas Gram negativas. A membrana externa também contém proteínas integrais lipoproteínas, proteínas de ligação e porinas. A maioria dos bacilos de importância clínica (*Escherichia*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Shigella*, *Pseudomonas* etc) é Gram negativa, exceto os gêneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*.

A parede celular das micobactérias (*Mycobacterium tuberculosis*, *M. leprae*) é constituída também de peptidoglicano, porém revestido por uma camada de ácido micólico, o que torna esta parede impermeável à entrada de corantes básicos, denominadas de BAAR, por ser resistente a descoloração pelo álcool-ácido, depois de coradas pela fucsina de Zehl-Neelsen. Esta bactéria não se cora pela técnica de Gram. É também uma bactéria muito resistente ao ressecamento e à desidratação.

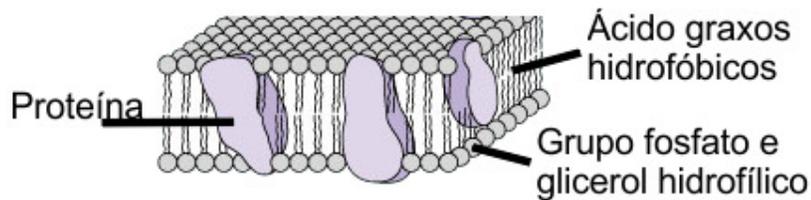
A parede celular das bactérias Gram positivas é sensível à ação da lisozima encontrada na lágrima e do muco. Sensível também aos antibióticos β -lactâmicos, conforme será explicado na unidade correspondente.

1.2 MEMBRANA CITOPLASMÁTICA

A membrana plasmática reveste o citoplasma, controlando o fluxo de entrada ou de saída de todas as substâncias na célula, através das proteínas de transportes. É também responsável pelo transporte de elétrons e a produção de energia. Apresenta constituição fosfolipídica, formando uma bicamada fluida bipolar, com ausência de esteróis, exceto para os micoplasmas (Figura 10). Na superfície, a camada de fosfato é hidrofílica e internamente é hidrofóbica.

Na membrana existe ainda o mesossoma (Figura 7), que nada mais é que uma invaginação da membrana, com função importante durante o processo de multiplicação bacteriana, ao se ligar e separar os cromossomos durante a divisão celular.

Figura 10- Membrana citoplasmática



Fonte: TORTORA, FUNKE, CASE (2003), modificado.

1.3 CITOPLASMA

O citoplasma é constituído por substância aquosa, contendo proteínas e enzimas. Destaca-se o material nuclear, os ribossomos e as inclusões que estão imersos no citoplasma.

1.4 MATERIAL NUCLEAR

O material nuclear encontra-se disperso no citoplasma, constituído de uma fita dupla, circular de DNA (Figura 7). Neste cromossomo estão contidas todas as informações genéticas

essenciais. Não contém histonas e não é envolvido por membrana nuclear, ao contrário das células eucarióticas.

1.5 RIBOSSOMOS

Os ribossomos são proteínas (RNA ribossômico ou rRNA) de aspecto granular, constituídos por duas unidades, responsáveis pela síntese protéica. São encontrados centenas a milhares deles dispersos no citoplasma, porém podem diminuir em quantidade, conforme a atividade da bactéria.

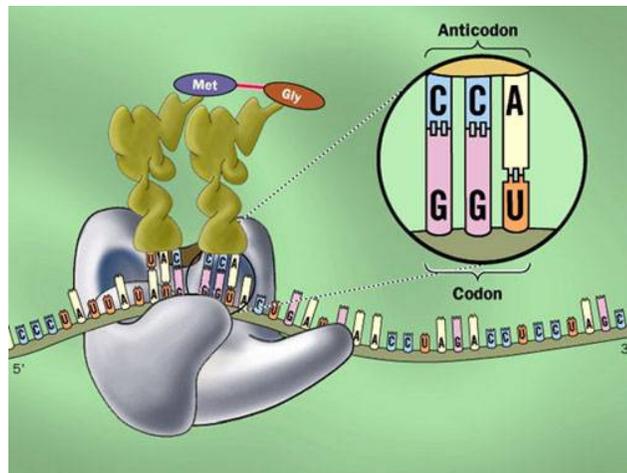
As bactérias formam ribossomos 70S (Unidade Svedberg = velocidade relativa de sedimentação). No entanto, cada subunidade separada mede 50S e 30S (Figura 11).

PERGUNTAS???



1. Comparando a parede celular de uma bactéria a uma parede de uma casa, o que representaria os tijolos, as armações de arame e o reboco?
2. Qual a diferença entre os ácidos teicóico e lipoteicóico?
3. Qual o mecanismo da coloração de Gram?

Figura 11- Ribossomos de procarionto.



Fonte: <http://www.redeeduca.com.br/editor/assets/codon.jpg>

2. ESTRUTURAS NÃO ESSENCIAIS

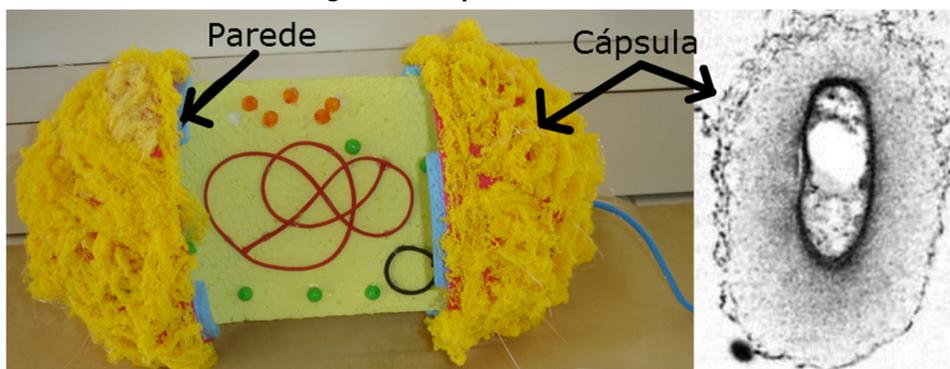
As estruturas não essenciais são aquelas que apenas algumas bactérias apresentam, consideradas não vital a sua multiplicação. Estas estruturas conferem à bactéria funções adicionais, importantes a sua sobrevivência, interação com o hospedeiro e metabolismo.

2.1 CÁPSULA OU GLICOCÁLICE

As bactérias secretam substâncias denominadas de cápsula ou glicocálice que se acumulam externamente a parede celular (Figura 12). São substâncias mucoides, viscosas, constituídas de polissacarídeos, exceto no gênero *Bacillus anthracis*, que é constituído por ácido poli D-glutâmico (polipeptídeo).

Para ser considerada cápsula, o material é mais organizado e mais fortemente aderido à parede. Já quando é fracamente aderido e de natureza amorfa, denomina-se de glicocálice. Em ambos, estas substâncias têm como principal função ser uma estrutura antifagocitária. Atuam também como barreira contra a difusão de solutos, são substâncias de reservas, aumenta a aderência e a formação de biofilme. A formação de biofilme favorece também a agregação das bactérias. A bactéria *Streptococcus mutans* é formadora de biofilme (glicocálice), propriedade importante na formação da cárie dentária.

Figura 12- Cápsula bacteriana.



Fonte: NASCIMENTO, J.S. (2010)

2.2 FLAGELO

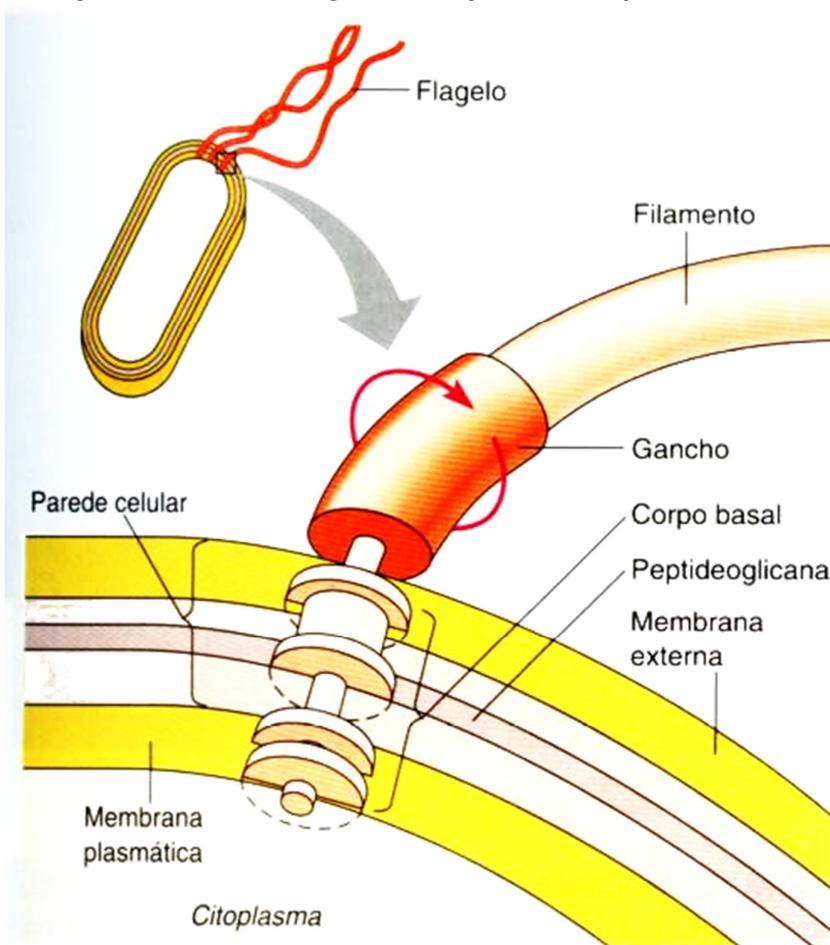
Algumas bactérias possuem flagelos, constituídos por proteína denominada de flagelina, os quais conferem motilidade. Esta estrutura é constituída de um corpo basal (onde se insere até a membrana plasmática), um gancho (rígido e com movimentos giratórios) e o filamento longo em forma de chicote (Figura 13).

Quanto à distribuição de flagelos as bactérias são classificadas em: (Figura 14).

- a) Monotríquio: um flagelo em uma das extremidades;
- b) Anfitríquio: um flagelo em cada extremidade;
- c) Lofotríquio: dois ou mais flagelos em um dos polos;
- d) Peritríquio: flagelos em toda a superfície.

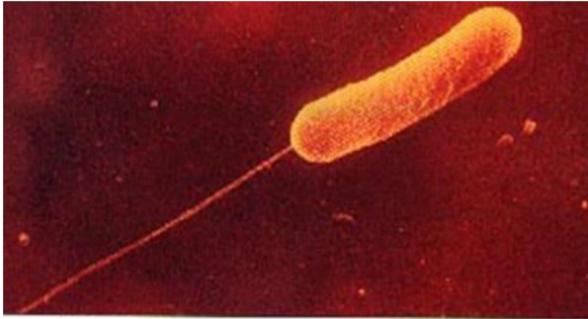
Algumas espiroquetas (bactérias espiraladas, Ex. *Treponema*, *Leptospira*) possuem um flagelo diferenciado, denominado de filamento axial. Este filamento em forma de espiral, em torno da célula, é revestido por uma bainha, possibilitando a bactéria movimentar-se em forma de “sacacola” (Figura 15). A bactéria com flagelo desloca-se de forma aleatória ou em função de respostas a fototaxias ou a quimiotaxias.

Figura 13- Partes do flagelo e inserção deste na parede celular

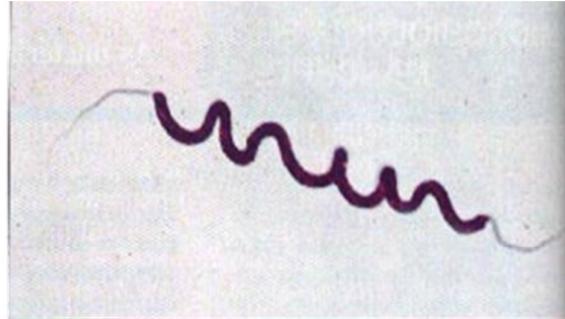


Fonte: TORTORA, FUNKE, CASE (2003)

Figura 14- Classificação quanto à localização dos flagelos



Monotríquio



Anfitríquio



Lofotríquio



Peritríquio

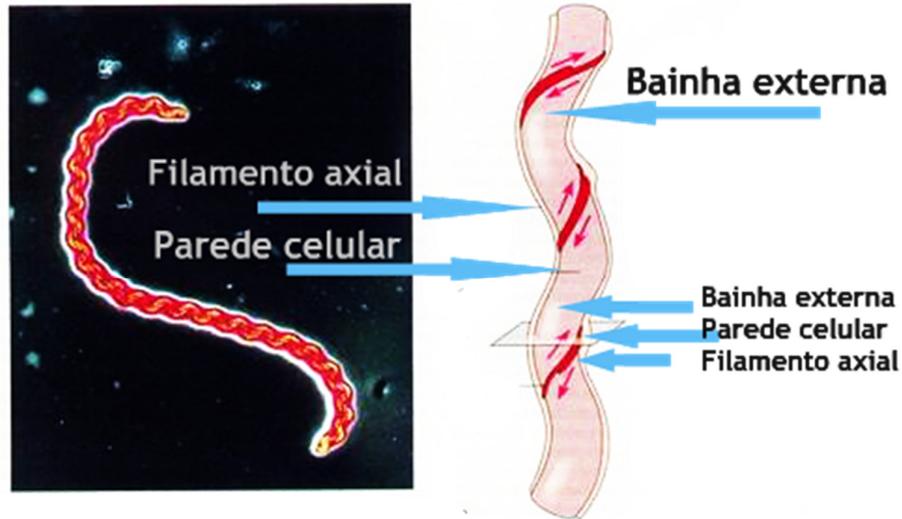
Fonte: TORTORA, FUNKE, CASE (2003).

PERGUNTAS???



1. As bactérias apresentam quimiotaxia e fototaxia?
2. Quando as bactérias se deslocam como muitos giros (zigzagues), o que isso poderia significar?
3. Dê as funções das estruturas essenciais e das não essenciais?

Figura 15- Localização do filamento axial nos espiroquetídeos



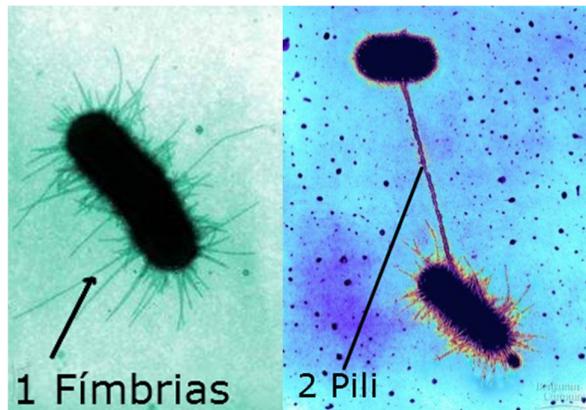
Fonte: TORTORA, FUNKE, CASE (2003), modificado.

2.3 FÍMBRIAS E PILI

As fímbrias são pequenos filamentos protéicos (proteína pilina) semelhantes à pelos em torno da parede celular (Figura 16). A função das fímbrias é de aderência, favorecendo a colonização do hospedeiro. A quantidade e a distribuição de fímbrias são bastante variáveis.

Algumas bactérias apresentam uma fímbria especial, denominada de pili (pili sexual), pelo qual a bactéria transfere cópias do plasmídeo para outras bactérias, durante a conjugação. É mais longo que as fímbrias comuns, sendo codificado por um plasmídeo F ou plasmídeo conjugativo.

Figura 16- Bactérias com fímbrias (1) e com a fímbria conjugativa denominada de pili sexual (2)



Fonte: 1. <http://media.photobucket.com/image/pili%20sexual%20bacteria/roland98/27-06-Pili.jpg>

2. <http://io.uwinnipeg.ca/~simmons/16cm05/1116/27-x1-ProkaryoteConjugation.jpg>

2.4 PLASMÍDEO

Algumas bactérias não apresentam plasmídeos, enquanto outras podem apresentar um ou mais plasmídeos (Figura 7). São estruturas compostas por DNA de fita dupla, circular, com menos informações genéticas extracromossômico. Os genes contidos no plasmídeo conferem resistência, produção de toxina, produção de enzima, fertilidade e outras propriedades. O

plasmídeo é autoreplicativo, independente da multiplicação da bactéria. A bactéria pode receber ou perder o plasmídeo sem danos à célula.

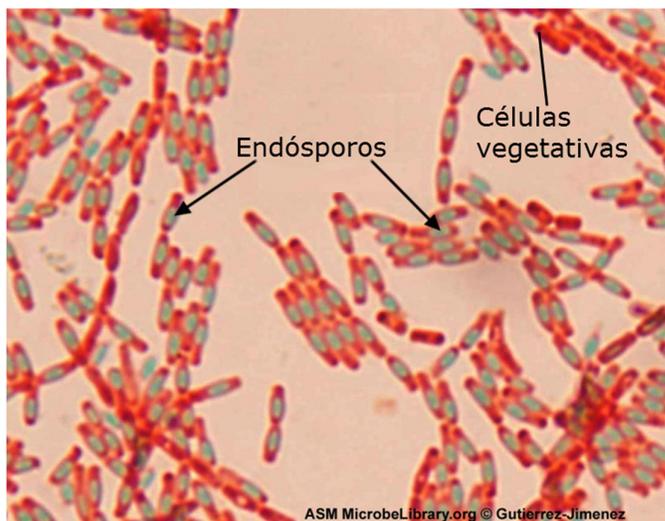
2.5 ESPORO (ENDÓSPORO)

Algumas bactérias Gram positivas são capazes de formar endósporos, que são estruturas de resistência quando estas se encontram em condições adversas. É formado um endósporo por célula e quando ocorre lise da célula vegetativa, este é liberado. Após ser liberado da célula, passa a ser denominado de esporo, muito resistente ao calor (a fervura), à substâncias químicas e à radiação. Sobrevive no ambiente durante centenas de anos. Entre as bactérias mais conhecidas, os gêneros *Bacillus* e *Clostridium* são formadores de endósporos. Nas condições adequadas, o esporo germina e dá origem à célula vegetativa, voltando ao seu metabolismo normal.

A esporulação ocorre, em laboratório, nas culturas velhas dessas bactérias. Inicialmente, o DNA é duplicado, ocorre separação da membrana e da parede, originando o endósporo. A posição do endósporo na célula auxilia na identificação da bactéria, pode ser terminal, subterminal ou central. Em *Clostridium*, o endósporo é mais espesso que a largura da bactéria, deixando o bacilo em forma de raquete.

Os esporos podem ser corados por técnicas especiais como a do verde malaquita, onde a suspensão de esporo aquecida por 5 minutos, cora-se de verde e a célula vegetativa em vermelho, pela fucsina (Figura 17). A estrutura do esporo é formada pelo conteúdo nuclear, algumas proteínas e o cálcio que se liga ao ácido dipicolínico produzido, importante para quando este voltar ao metabolismo, formando o cerne. Depois, revestido pela membrana interna, dupla camada de peptidoglicano (córtex) e uma capa externa de proteína semelhante à queratina (Figura 18). A reativação do esporo ocorre pela ruptura da capa externa, através de ação mecânica, calor ou outro fator estimulador, em presença de água e nutrientes. O dipicolinato de cálcio é degradado e a célula vegetativa se reconstitui, voltando ao metabolismo normal com a entrada de água e nutrientes.

Figura 17- Bactérias coradas pelo verde malaquita (endósporos) e a células vegetativas em vermelho.



Fonte:

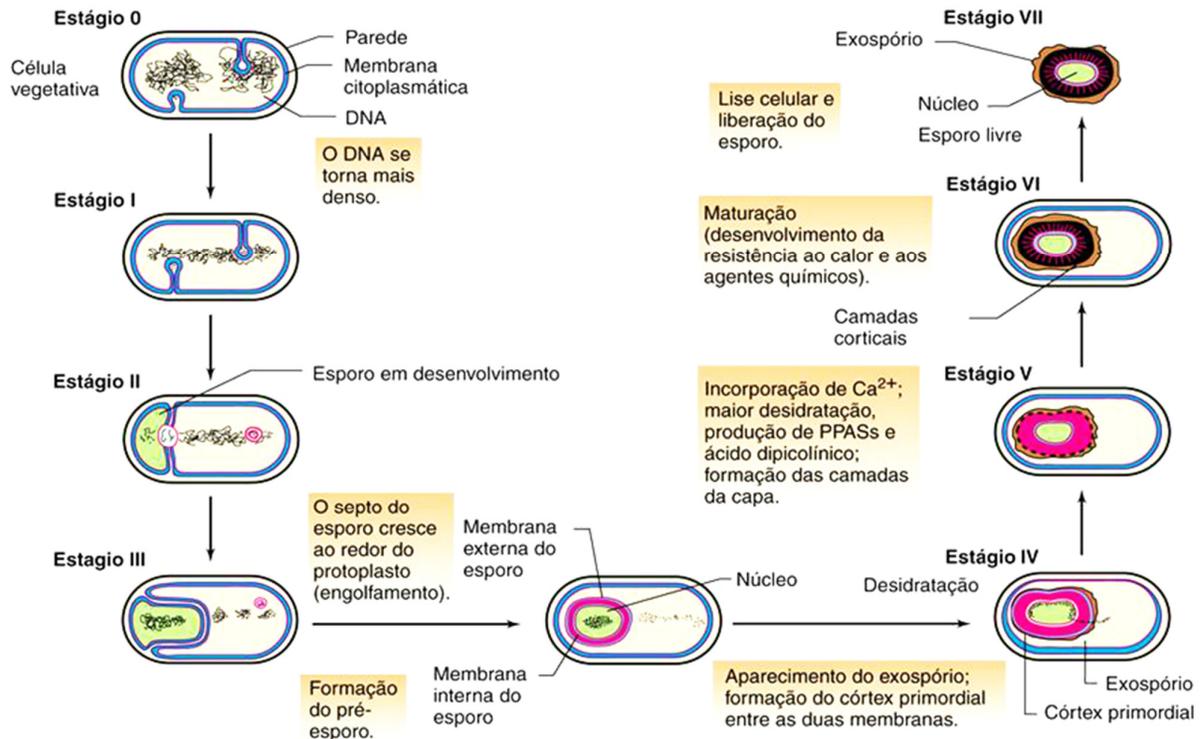
http://www.microbelibrary.org/microbelibrary/files/cclimages/Articleimages/Atlas_Endospore/Bacillus%20species_Endospore%20stain_fig14.jpg

PERGUNTAS???



4. Por que o esporo bacteriano é mais resistente ao estresse ambiental?
5. Se uma suspensão das bactérias contendo *Escherichia* e *Clostridium* for fervida, qual delas sobrevive?

Figura 18- Diferentes estágios na formação do esporo bacteriano



Fonte: MADIGAN, MARTINKO, PARKER (2004).

2.6 INCLUSÕES

As inclusões compreendem os depósitos de reserva, destacando-se os grânulos metacromáticos (reserva de fosfato inorgânico), polissacarídeos, lipídeos, enxofre, óxido de ferro, vacúolos de gás etc (Figura 7).

PRÁTICA 2: COLORAÇÃO DE GRAM

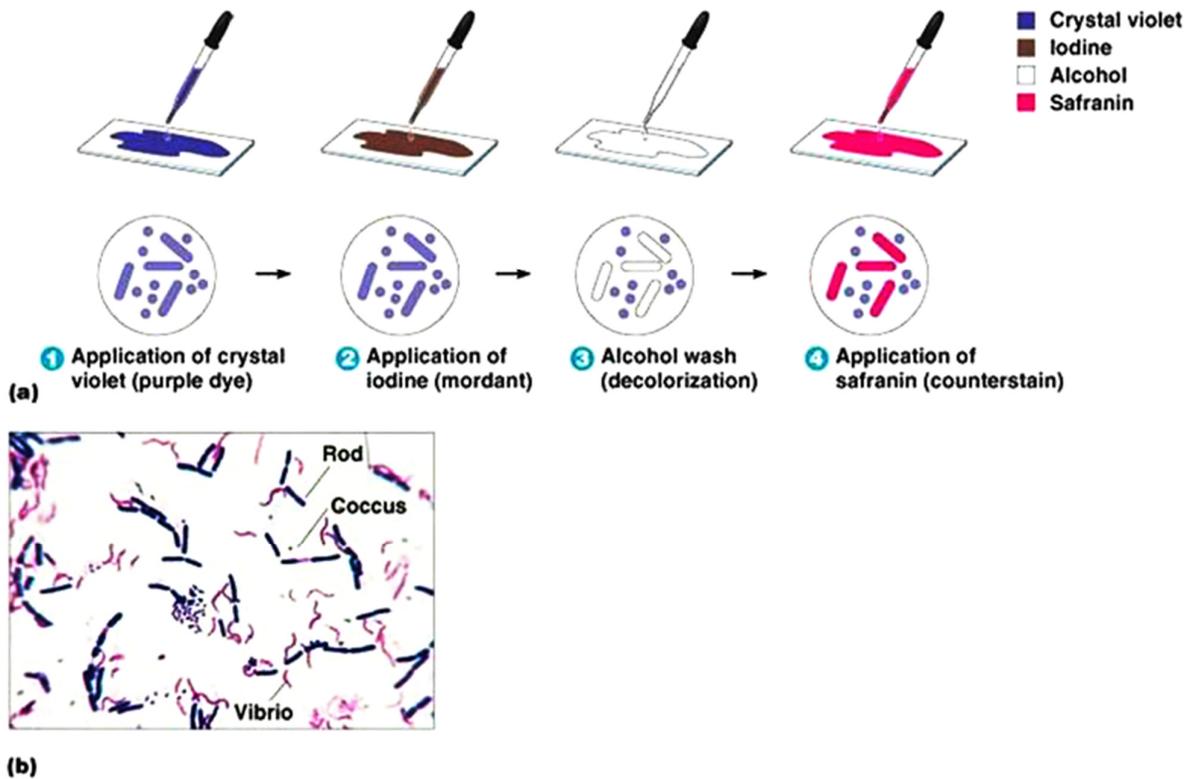
1. Introdução

A técnica de coloração de Gram foi descoberta pelo físico dinamarquês Christian Gram, em 1884. Esta coloração é muito utilizada na bacteriologia permitindo a distinção entre bactérias Gram positivas (púrpura) e Gram negativas (rosa), sendo aplicada a maioria dos coco e bacilos. A

diferença entre os dois tipos de células relaciona-se com a estrutura da parede celular das bactérias. Como a parede celular das bactérias Gram positivas é formada por uma camada espessa de peptidoglicano, enquanto que a parede celular das Gram negativas é formada por uma camada fina de peptidoglicano mais a externa lipopolissacarídica. Ao ser corada e depois de aplicado um solvente (álcool) a Gram positiva permanece corada pelo corante cristal violeta, enquanto a Gram negativa é descorada e corada posteriormente com fucsina, permitindo a diferenciação. O álcool dissolve o LPS da Gram negativa e o corante sai (Figura 19). Já a Gram positiva por não apresentar lipídeos, mas uma camada espessa de peptidoglicano será desidratada e reterá o corante violeta de genciana.

Embora a maioria das bactérias possa ser corada por tal método, algumas não o fazem satisfatoriamente, exigindo técnicas especiais de coloração, a exemplo das micobactérias, nocardias, espiroquetas, micoplasma, riquetsias e clamídias.

Figura 19- Coloração de Gram: a. etapas da coloração; b. resultado observado na microscopia.



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Fonte: TORTORA, FUNKE, CASE (2003).

2. Material

Placa de Petri contendo a cultura bacteriana recente, lâminas de microscopia para preparação do esfregaço, solução salina ou água estéril, alça de platina, bico de Bunsen, bateria de corantes para o Gram.

3. Procedimento:

a) Preparação do esfregaço:

- Observando as precauções de assepsia: desinfecção, antissepsia e flambagem;
- Limpar uma lâmina de microscopia (passar algodão embebido em álcool);
- Quando se tratar de uma cultura em meio líquido: com uma alça de platina flambada, mergulhar na cultura e colocá-la (película do líquido) sobre a lâmina espalhando-a para formar um esfregaço fino e uniforme. Quando a cultura for sólida: colocar uma gota de água estéril sobre a lâmina com a alça de platina, tocar na colônia com a alça e suspendê-la na gota de água estéril, espalhando suficientemente para obter um esfregaço fino;
- Deixar a lâmina secar a temperatura ambiente;
- Fixar na chama do bico de Bunsen, cortando a chama por três vezes.

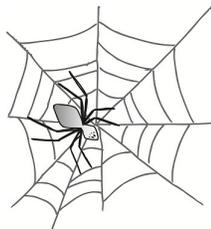
b) Coloração:

- Cobrir o esfregaço bacteriano com cristal violeta, por um minuto e verter o corante na cuba;
- Cobrir o esfregaço com solução de lugol, por um minuto e retirar a seguir, lavando com um filete de água;
- Descorar o esfregaço usando uma solução de álcool acetona, rapidamente (10-15 segundos);
- Lavar com um filete de água corrente, imediatamente;
- Cobrir o esfregaço com a fucsina, por 30 segundos e desprezar o corante;
- Lavar com um filete de água corrente;
- Secar com papel absorvente.

c) Observação na microscopia:

- Adicionar uma gotícula de óleo de imersão sobre o esfregaço (para concentrar os raios luminosos e evitar a refração);
- Selecionar a objetiva de 100x do microscópio e focalizar;
- Identificar o Gram, a morfologia da célula e o arranjo;
- Desprezar a lâmina utilizada em frasco com desinfetante e limpar o microscópio

TÁ NA WEB!!!



Assista vídeos sobre a coloração de Gram no youtube:

<http://www.youtube.com/watch?v=30D1FUyTccU&feature=related>

<http://www.youtube.com/watch?v=c6d7zOIP6Vo&feature=related>

<http://www.youtube.com/watch?v=zLYIL4rjzEA&NR=1&feature=fvwp>

UNIDADE 5 FISIOLOGIA MICROBIANA

1. NECESSIDADES NUTRICIONAIS

Os microrganismos estão agrupados conforme as suas necessidades nutricionais, de modo que foram, a princípio, divididos em autotróficos (capazes de sintetizar nutrientes a partir de elementos primários) e heterotróficos (capazes de degradar compostos pré-formados para assimilar os nutrientes). As necessidades nutricionais dizem respeito às fontes de energia, luz, compostos inorgânicos e orgânicos, que são fornecidos aos microrganismos.

O cultivo de microrganismos é importante em várias áreas da pesquisa, os quais podem ser cultivados *in vivo* (pela utilização de células vivas ou cobaias) e *in vitro* (pela utilização de meios de cultura inanimado). No cultivo são fornecidos fontes de carbono, fontes de nitrogênio, sais minerais, fatores de crescimento e água. Além dos fatores nutricionais, são necessários a temperatura, as condições de pH, potencial osmótico, aeração etc.

A assimilação dos nutrientes pelos microrganismos ocorre através de reações enzimáticas, que são liberadas no substrato, promovendo a decomposição (catabolismo ou decomposição) ou por vias metabólicas de biossíntese (anabolismo). Poucos são os microrganismos capazes de realizar a nutrição pela ingestão ou fagocitose.

As principais vias metabólicas são:

- Glicolítica: processo anaeróbio da oxidação da glicose ($C_6H_{12}O_6$) até ácido pirúvico;
- Fermentativa: processo de obtenção de energia pelo qual a molécula orgânica que está sendo metabolizada não é completamente oxidada, ou seja, não extrai todo o seu potencial energético. Produtos: ácidos acético e lático, álcoois (etanol, metanol e butanol), cetonas (acetona) e gases (dióxido de carbono e hidrogênio molecular);
- Respiração aeróbia: processo de oxidação do piruvato, resultante da glicólise, a dióxido de carbono e água. Requer O_2 como aceptor final de elétrons e é muito mais eficiente na obtenção de energia do que a via glicolítica ou a fermentativa;
- Respiração anaeróbia: os microrganismos são capazes de utilizar muitos outros aceptores finais de elétrons, como o sulfato em bactérias do gênero *Desulfovibrio*. Para isto, multiplicam-se na ausência de oxigênio.

2. FATORES FÍSICOS IMPORTANTES AO CRESCIMENTO MICROBIANO

Os fatores físicos necessários ao crescimento microbiano incluem luz, temperatura, aeração, pH etc. Os microrganismos são classificados em diferentes categorias conforme estes fatores (Esquema 1):

2.1 QUANTO ÀS FONTES DE ENERGIA E DE CARBONO

- Fotolitotróficos ou fotoautotróficos: luz como fonte de energia e CO_2 como fontes de carbono. Ex. bactérias fotossintetizantes (cianobactérias), bactérias sulfurosas púrpuras (*Chromatium*) e bactérias sulfurosas verdes (*Chlorobium*);
- Fotorganotróficos: luz como fonte de energia e compostos orgânicos (álcool, carboidratos, ácidos orgânicos etc.) como fontes de carbono. Ex. bactérias verdes não sulfurosas (*Chloroflexus*) e bactérias púrpuras não sulfurosas (*Rhodospseudomonas*);

- c) Quimiolitotróficos: campestos inorgânicos (gás sulfídrico (H_2S), enxofre elementar (S), amônia (NH_3), gás hidrogênio (H_2), nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-) e ferro (Fe^{2+})) como fonte de energia e como fonte de energia e CO_2 como fontes de carbono;
- d) Quimiorganotróficos: campestos orgânicos como fontes de energia e de carbono. Ex. a maioria das bactérias, fungos e protozoários.

2.2 QUANTO AO PH

- a) Acidófilos: crescimento ótimo em pH abaixo de 7;
- b) Mesófilos: crescimento ótimo em pH em torno de 7;
- c) Alcalófilos: crescimento ótimo em pH acima de 7.

2.3 QUANTO À AERAÇÃO

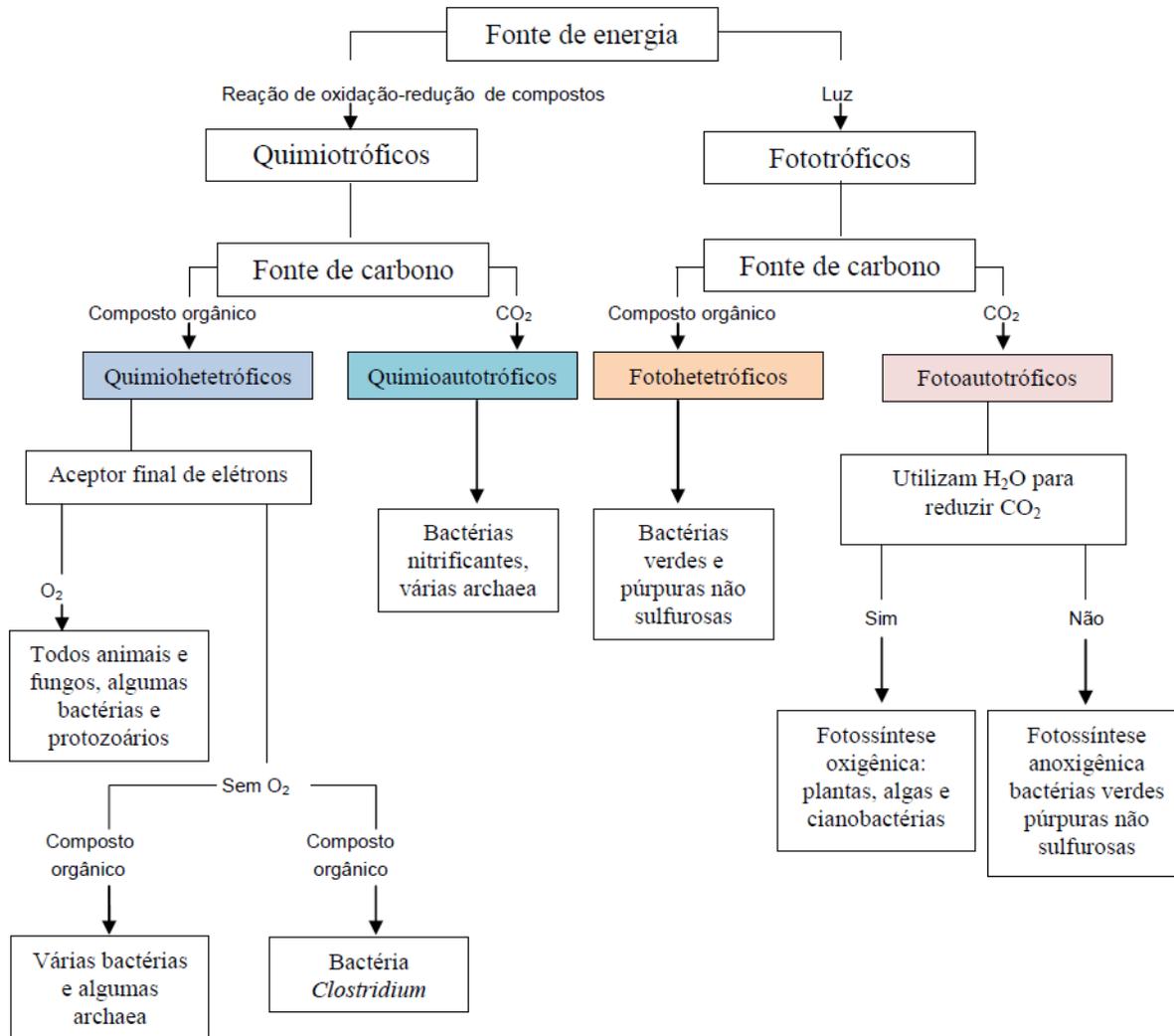
- a) Aeróbios: crescem apenas em presença de oxigênio livre;
- b) Anaeróbios: crescem apenas na ausência de oxigênio livre;
- c) Microaeróbios: crescem sob baixa tensão de oxigênio livre;
- d) Anaeróbios facultativos: são anaeróbios, porém crescem em condições aeróbias.

SAIBA MAIS!!!



- Os fungos apresentam o pH ótimo em torno de 6, mas toleram pH entre 2 a 9.
- As bactérias apresentam melhor crescimento a pH 7, com tolerância entre 4 a 8.
- As bactérias aneróbias obrigatórias não produzem enzimas peroxidase e superóxido dismutase, que elimina os radicais peróxido e superóxido do metabolismo oxigenativo. Portanto, as que não formam esporos, morrem em presença do oxigênio.

Esquema 1: Classificação dos microrganismos em relação às fontes de energia e de carbono.



Fonte: NASCIMENTO, J.S. (2012)

2.4 QUANTO À TEMPERATURA

- Psicrófilos: ótimo crescimento a 10°C, porém toleram temperaturas entre -10°C a 20°C. Microrganismos típicos de ambientes glaciais;
- Psicrotróficos: ótimo crescimento a 20°C, porém toleram temperaturas entre 0°C a 30°C. Microrganismos típicos de ambientes refrigerados;
- Mesófilos: ótimo crescimento a 35°C, porém toleram temperaturas entre 10°C a 45°C. Microrganismos típicos do ambiente e da microbiota humana e de animais;
- Termófilos: ótimo crescimento a 60°C, porém toleram temperaturas entre 40°C a 70°C. Microrganismos típicos de compostagem ou processos térmicos;
- Extremófilos: ótimo crescimento a 90°C, porém toleram temperaturas entre 65°C a 110°C. Microrganismos típicos de ambientes quentes (vulcões, regiões termais, gêiser).

2.5 QUANTO À PRESSÃO OSMÓTICA

- Hipotônicos: devido a menor concentração de sais no meio, a bactéria absorve líquidos em excesso, tornando a célula túrgida;

- b) Isotônicos: a concentração de sais no meio está em equilíbrio com o do citoplasma bacteriano;
- c) Hipertônicos: devido a maior concentração de sais no meio, a bactéria perde líquidos em excesso, ocorrendo plasmólise da célula.

3. CURVA NORMAL DE CRESCIMENTO BACTERIANO

3.1 CRESCIMENTO MICROBIANO

As bactérias crescem ou se multiplicam de forma assexual por fissão binária ou cissiparidade. Sendo assim, cada célula, em um determinado intervalo de tempo (tempo de geração) originará duas células semelhantes à célula de origem. Ocorre alongamento da célula, replicação do DNA, invaginação da membrana e da parede celular formando um septo separador. Algumas bactérias filamentosas (actinomicetos) formam brotamento originando células reprodutivas.

3.2. TEMPO DE GERAÇÃO

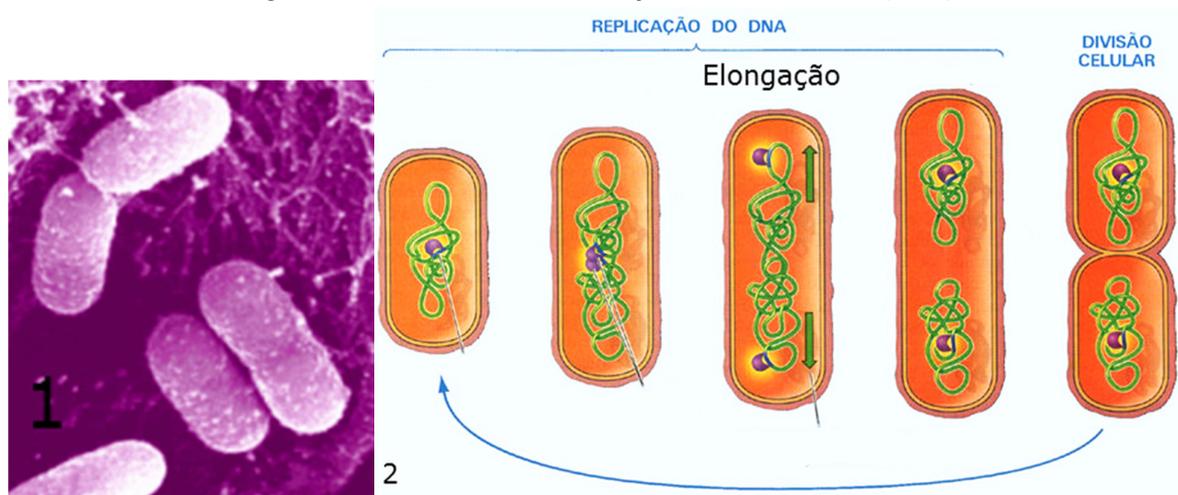
O tempo de geração (TG) corresponde o tempo necessário à multiplicação bacteriana. Esse tempo varia conforme a espécie em questão e a fase de crescimento ou divisão celular (Figura 20). A *Escherichia coli*, uma bactéria entérica, apresenta um TG de 20 minutos, enquanto *Rhizobium* sp., bactéria fixadora de nitrogênio, tem TG de 3-5 horas e o *Mycobacterium tuberculosis*, causador da tuberculose, tem TG superior a 18 horas. A fase de maior crescimento é quando a bactéria está adaptada ao meio e dispõe de nutrientes e fatores ambientais necessários ao crescimento. Em culturas velhas o crescimento é praticamente nulo.

AREGAÇANDO AS MANGAS!!!



As bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* são muitos comuns nas mãos (pele e fossas nasais) e trato digestivo. Elas apresentam um tempo de geração curto, em média, 20 minutos. Informe, quantas células bacterianas são formadas após 8 horas de incubação (tempo que, as vezes, deixamos um alimento proteico, cozido ou cru fora da refrigeração, exposto à contaminação por esses microrganismos).

Figura 20- Células de bacilos em processo de divisão (1 e 2).



Fonte:

1. http://crv.educacao.mg.gov.br/sistema_crv/banco_objetos_crv/%7B9DBB39BF-442E-4C90-AB18-C034F4FA9AEA%7D_0701_image002.gif

2. <http://media.photobucket.com/image/divisao%20binaria/Oforhiahrage/Cpiadereplicaobacterina.jpg>

A partir do crescimento de cada célula, em sucessivas divisões, originará colônias, com milhões de células. As colônias de bactérias apresentam aspectos mucoides, com formas, cor e tamanho variados (Figura 21).

Figura 21- Placa de Petri contendo colônias de bactérias.

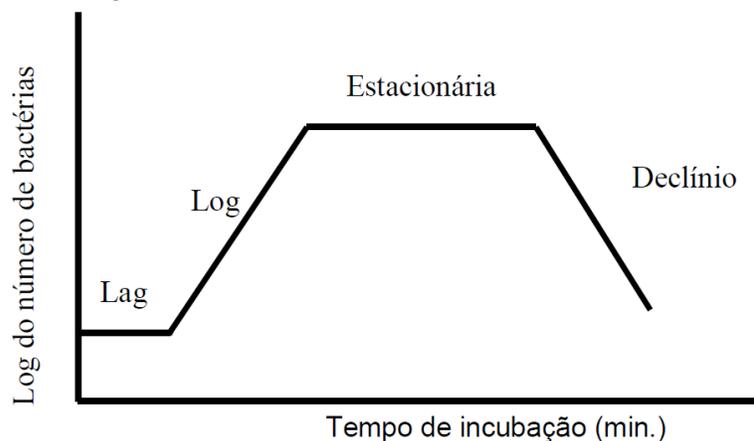


Fonte: NASCIMENTO, J.S. (2012)

3.3. CURVA NORMAL DE CRESCIMENTO BACTERIANO

A curva normal de crescimento microbiano representa o aumento da população em um determinado período de tempo. Isto pode ser evidenciado, inoculando-se bactérias em meio líquido e realizando-se contagem do número de células periodicamente ao longo de um determinado período. Com isto, observa-se que a cultura passa por quatro fases distintas (Figura 22):

Figura 22- Curva normal de crescimento bacteriano.



Fonte: NASCIMENTO, J.S. (2010)

- Fase lag: fase adaptativa ou de latência, na qual a célula ativa intensamente seu metabolismo, porém não se multiplica. Esta fase é bastante variável conforme a espécie. Algumas levam horas e outras, dias;
- Fase log: conhecida como fase logarítmica, caracteriza-se pela fase de divisão constante das células, duplicando a população a cada geração. Denomina-se também de fase de crescimento exponencial, estabelecendo-se graficamente a representação de uma reta ascendente. Ocorre também uma intensa atividade metabólica e as células são sensíveis, pois estão em fase de formação dos componentes celulares. Caso seja renovado o meio de cultura sistematicamente, esta população de bactéria permanece na fase log sem passar à fase seguinte;
- Fase estacionária: fase em que o número de células novas sendo geradas diminui, equivalendo-se ao número de células destruídas pelo próprio metabolismo e escassez nutricional. Desta forma, a população continua se multiplicando, mas não cresce, torna-se estável e com alta competitividade por espaço e nutrientes. Nesta fase, as bactérias capazes de formar esporos, iniciam este processo para se manterem viáveis em fase mais crítica;
- Fase de declínio: nesta fase, as células raramente se multiplicam. A população decresce, pois as células entram em colapso, devido à escassez nutricional e à formação de substâncias tóxicas. Algumas bactérias conseguem se manter viável por longo tempo, mesmo nestas condições, outras são severamente afetadas e não mais se recuperam.

PRÁTICA 3: COLORAÇÃO DE ZIEHL-NEELEN

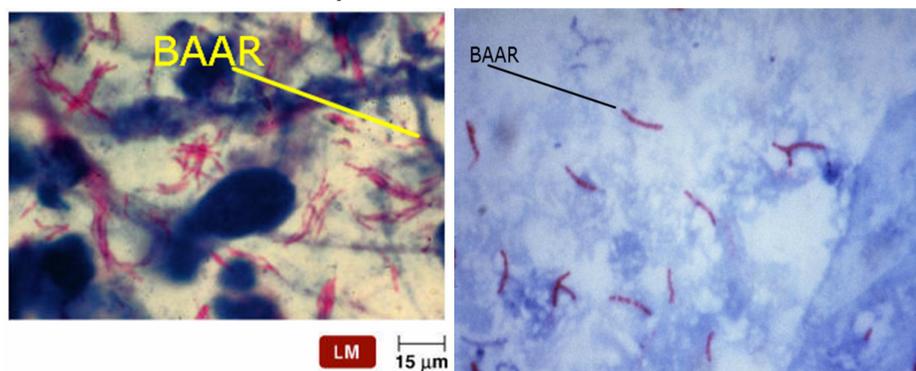
1. Introdução

Os Bacilos Álcool Ácido Resistentes (BAAR) são bactérias do gênero *Mycobacterium*, como, por exemplo, as espécies *M. tuberculosis*, *M. leprae* e *M. bovis*. A parede destas micobactérias possui uma espessa camada de lipídeos complexos (ácidos micólicos) que evita a penetração de diversos corantes. Por outro lado, quando o corante penetra na célula, ele

não pode ser removido com facilidade, mesmo com o uso de álcool ácido, de onde surgiu a denominação BAAR.

Os bacilos da tuberculose são vistos como bacilos finos, retos, ligeiramente encurvados e geralmente isolados, corados em vermelho pela fucsina de Ziehl (Figura 23); já os bacilos da hanseníase, agrupam-se em feixes denominados globias. São bactérias de difícil crescimento, pois se multiplicam lentamente, sendo que este não cresce *in vitro*.

Figura 23- Micobactérias coradas em vermelho pela coloração de Ziehl-Neelsen: 1. *Mycobacterium leprae*; 2. *M. tuberculosis*



Fonte: 1. http://www2.bc.cc.ca.us/bio16/22_Resppictures.htm

2. http://www.craigleithill.co.uk/images/Mycobacterium_tuberculosis_Ziehl-Neelsen_stain_02.jpg

O resultado da baciloscopia do escarro é dado em cruzes e depende da quantidade de bacilos encontrados em 100 campos microscópicos observados. Assim obtém-se a média:

- + (menos de 1 bacilo por campo)
- ++ (1 a 10 bacilos por campo)
- +++ (mais de 10 bacilos por campo)

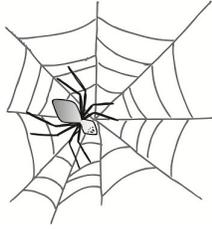
2. Material

Lâminas para preparação do esfregaço, solução salina, alça de platina, bico de Bunsen e bateria de corantes para Ziehl-Neelsen.

3. Procedimento

- Preparar um esfregaço a partir de escarro ou da cultura (semelhante ao utilizado no Gram);
- Cobrir o esfregaço com fucsina de Ziehl e aquecê-la até emissão de vapores, mantendo o aquecimento por 5 minutos (tendo o cuidado para não deixar o corante ferver, nem secar). O bacilo da tuberculose e o da hanseníase só se cora após o aquecimento;
- Lavar com um filete de água corrente;
- Descorar rapidamente com álcool-clorídrico a 3% até que não se desprenda mais corante;
- Lavar com um filete de água corrente;
- Corar com azul de metileno - 1 minuto;
- Lavar com um filete de água corrente;
- Secar com papel de filtro;
- Colocar óleo de imersão e observar na microscopia, com objetiva de 100x

TÁ NA WEB!!!



Assista o vídeo sobre a coloração de Ziehl-Neelsen para micobactérias, disponível no yotube:

<http://www.youtube.com/watch?v=PouloydSiPM>

UNIDADE 6 GENÉTICA BACTERIANA

1. GENOMA BACTERIANO

As características observadas nos microrganismos são controladas ou influenciadas pela hereditariedade. Sendo assim, características estruturais (morfologia), reações bioquímicas (metabolismo), motilidade, capacidade de sobreviver em várias condições ambientais, capacidade de interação com outros microrganismos etc., são repassadas entre as gerações.

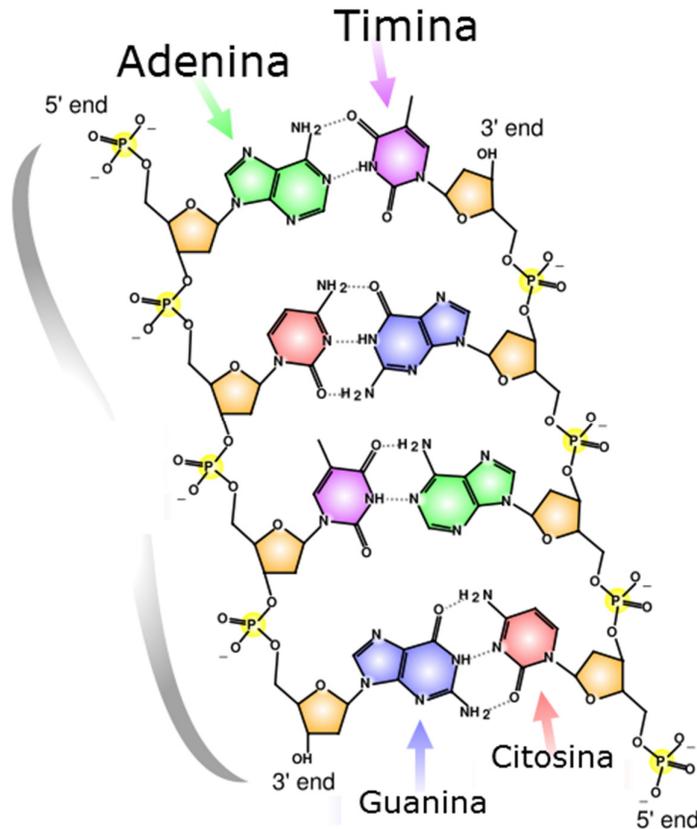
O estudo sobre genética é importante, pois os microrganismos são seres com alta capacidade de mutação ao alterar o material genético. As doenças e a atividade microbiana desenvolvida são dependentes do código genético.

As informações genéticas da bactéria estão organizadas no genoma que é o conjunto de genes de um organismo, sendo um gene um segmento de ácido desoxirribonucléico (DNA) que codifica para a produção de uma proteína.

DNA: composto por açúcar (pentose), radicais fosfatos e por seqüências de quatro bases nitrogenadas, ligadas por pontes de H, formando uma dupla hélice. São polímeros formados por unidades repetidas (nucleotídeos).

Nucleotídeo: uma base ligada a um açúcar e um ou mais fosfatos (Figura 24).

Figura 24- Material nuclear bacteriano: detalhe da dupla hélice de DNA



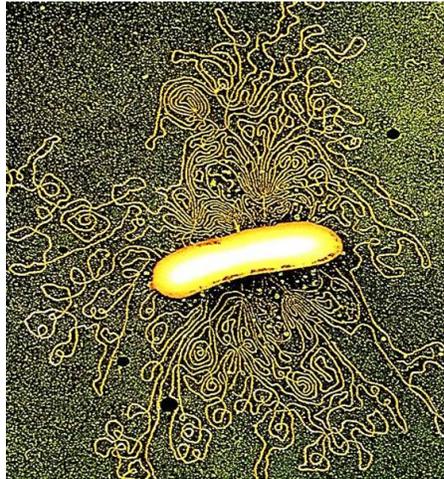
Fonte: <http://schools-wikipedia.org/images/646/64609.png> (modificado).

Tipos de bases:

- a) Purinas: Adenina (A) e Guanina (G);
- b) Pirimidinas: Citosina (C), Timina (T), Uracila (U)

O cromossomo bacteriano é constituído por uma única molécula de DNA, fita dupla de aproximadamente 1mm de comprimento, enovelado, circular e semiconservativa (Figura 25). Todas as informações essenciais à célula estão contidas nessa molécula. Além destas informações, algumas bactérias que contêm plasmídeo trazem outras informações não essenciais, com a mesma estrutura física do cromossomo, porém em menor quantidade de informações. Os tipos de plasmídeo são: F (sexual ou fertilidade), R (resistência), V (virulência), M (metabólico) etc.

Figura 25- DNA bacteriano extravasado após a ruptura celular



Fonte: <http://www.scb.org.br/inspiracao/naturezaviva/imagens/28-1-a-Escherichiacoli.jpg>

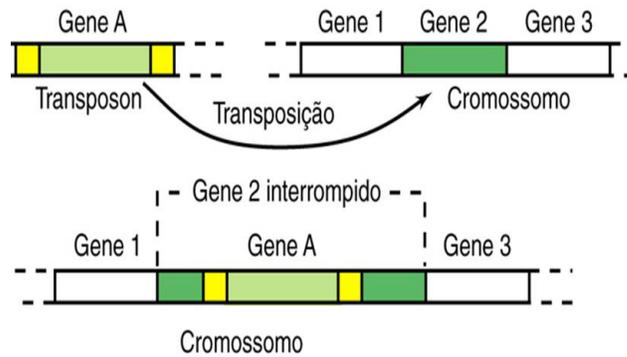
Outra característica importante é a existência de elementos transponíveis, com capacidade de movimentar-se de um local para outro no genoma, ou seja, ao longo da fita de plasmídeo e deste para o DNA. São denominados de transposons, os quais são variáveis. Os tipos de transposons conhecidos são estes:

- a) Sequência de inserção (SI): tem somente um gene que codifica a transposase e locais de reconhecimento que são sequências curtas, invertidas de DNA;

Transposon (Tn): são maiores que as SI e carregam outros genes, alguns conferindo propriedades importantes ao microrganismo, como resistência, antagonismo, síntese enzimática etc. (Figura 26).

As informações do DNA são transmitidas para um mRNA, sendo no rRNA onde ocorre a síntese protéica e no tRNA se dá o transporte das informações, reconstituindo a nova fita de DNA.

Figura 26- Transposon Tn: transposição de genes ao longo do cromossomo.



Fonte: MADIGAN, MARTINKO, PARKER (2004).

SAIBA MAIS!!!



- A replicação do DNA ocorre em duas fases, sempre no sentido 5' para 3' (Figura 24), que corresponde a ligação do carbono na cadeia.
- Consulte o capítulo 8 do livro: TORTORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L. **Microbiologia**, 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2003. p.208-237.

Para que ocorra a síntese proteica dois processos são determinantes:

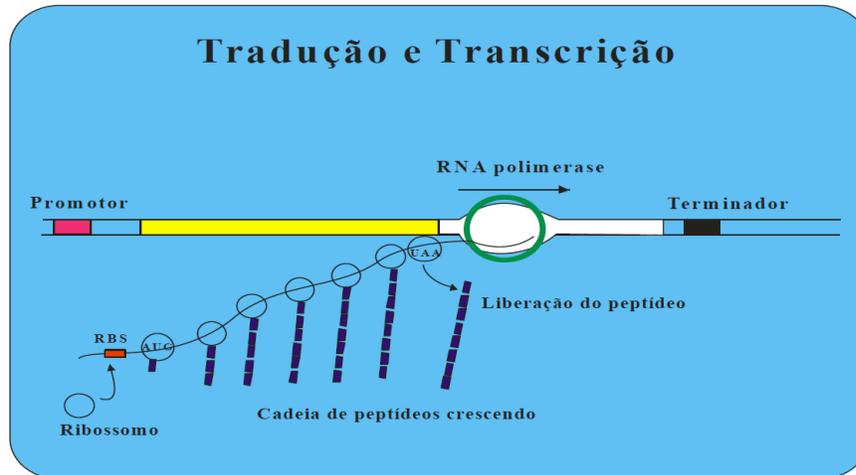
a) Transcrição: consiste na síntese de RNA, realizada por um complexo enzimático, cuja enzima chave é a RNA polimerase, composta de várias subunidades e que realiza a polimerização do RNA a partir de um molde de DNA.

Etapas:

- Iniciação (promotora): AUG.
- Alongamento: UUA, UUG, CUU, CUC, CAC, GAA, GCC... (proteínas).
- Término: UAA, UGA e UAG.

b) Tradução: processo que permite a informação genética ser transformada em proteína nos ribossomos. A leitura é em codon (aminoácido). As combinações de bases formam os codons. Estes se associam aos anticodons dos tRNA de forma específica, o que faz com que o aminoácido carregado pelo mesmo seja acrescentado à cadeia polipeptídica na ordem correta (Figura 27).

Figura 27- Etapas da tradução e da transcrição na replicação do DNA.



Fonte: MADIGAN, MARTINKO, PARKER (2004).

2. VARIABILIDADE GENÉTICA – MUTAÇÃO

A variabilidade genética diz respeito às alterações ocorridas na sequência de nucleotídeos na molécula de DNA, sendo esta a principal fonte de mudança evolutiva. Produzem novos alelos nos organismos, alguns espontaneamente, outros como resultado da exposição à radiação e substâncias químicas do ambiente.

A mutação é considerada um fenômeno comum entre os microrganismos e tem caráter evolutivo, apesar de ser “danoso” para os mesmos.

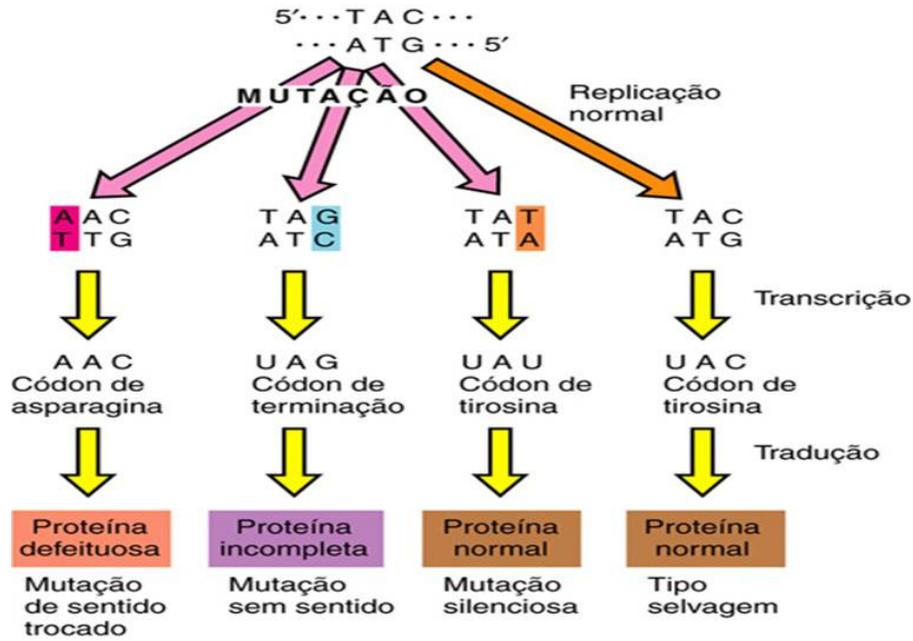
Algumas bactérias têm maior capacidade de mutação. Os tipos de mutações são:

- Espontânea: falhas no mecanismo de replicação (1 para 10^5 a 10^8), também denominada de mutação por deslocamento da fase de leitura, onde um ou alguns pares de nucleotídeos são suprimidos ou inseridos no DNA (Indel);
- Induzida: ocorre pela exposição aos agentes mutagênicos (ioniza o DNA)
 - Radiação (raios ultravioleta, raios X, raios gama):
 - Análogos de base (5 bromouracil, 2 aminopurina);
 - Corantes, antibióticos, metais pesados, drogas, calor etc.

Mutações pontuais envolvem um ou poucos pares de bases, onde estas são substituídas. São classificadas em (Figura 28):

- Mutação de sentido trocado (missense): altera a proteína formada;
- Mutação sem sentido (nonsense): quando a alteração resulta em um códon de parada;
- Mutação silenciosa: também conhecida como mutação neutra, pois mesmo alterando uma base, a proteína não é alterada.

Figura 28- Tipos de mutações pontuais



Fonte: MADIGAN, MARTINKO, PARKER (2004).

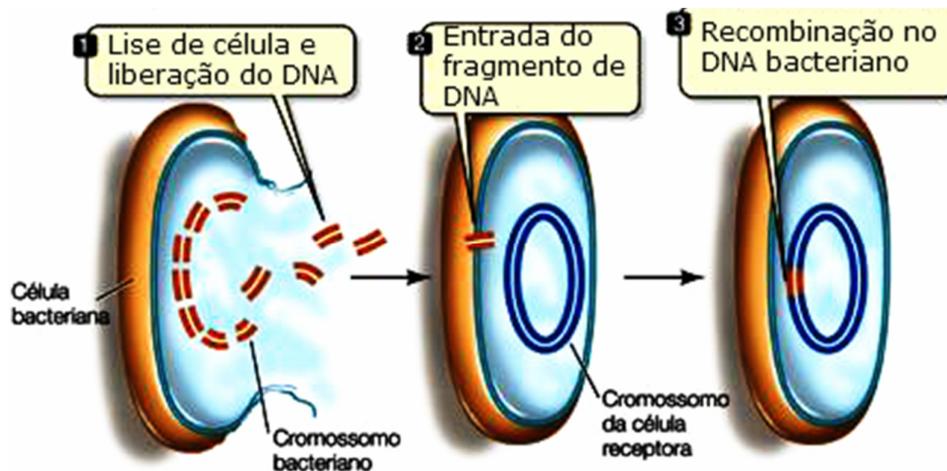
3. PROCESSOS DE TRANSFERÊNCIA DE GENES

Os microrganismos são capazes de transferir material genético entre si, numa população, sem que se caracterize um processo de multiplicação. Com a transferência gênica, os microrganismos são capazes de adquirir informações genéticas referentes à resistência a drogas, às condições ambientais, à síntese de enzimas, à produção de toxinas etc.

A transferência de genes pode ocorrer de três formas conhecidas:

- a) Transformação bacteriana: fragmentos de genes de uma bactéria destruída, porém viáveis, são captados por outra bactéria. Desta forma, a bactéria receptora, em estado competente (ocorrem alterações fisiológicas na parede celular e na permeabilidade da membrana para a entrada do fragmento de DNA), passa a possuir um genoma recombinante. Ex. de bactérias transformadas: *Bacillus*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* (Figura 29).

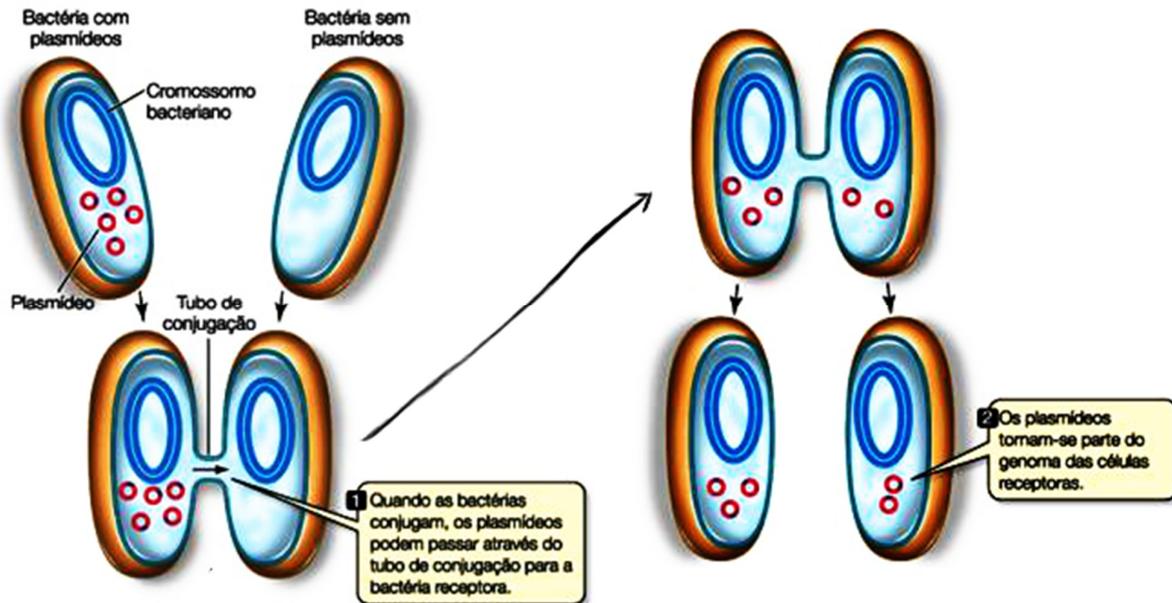
Figura 29- Transformação bacteriana



Fonte: <http://scienceblogs.com.br/meiodecultura/tag/mutacao/>

- b) Conjugação bacteriana: o material genético é transferido de uma célula para outra através de um pili conjugativo (pili sexual). Neste caso, as informações transferidas são as contidas no plasmídeo existente na bactéria doadora. Como o plasmídeo é auto replicativo, uma cópia do mesmo é transferido. As informações contidas na cópia do plasmídeo são para síntese de pili sexual (fator F = fertilidade) e outras informações não essenciais, dependendo do plasmídeo transferido (Figura 30). Quando o fator F se integra ao cromossomo transforma-se em uma célula de alta frequência de recombinação (Hfr). Somente a bactéria Hfr pode transferir cópias ou partes do DNA. Ex. *Escherichia coli*.
- c) Transdução: o material genético é transferido dentro de um vetor, um vírus conhecido como bacteriófago ou fago, capaz de infectar bactérias (Figura 31). Ao infectar a célula bacteriana, o fago fixa-se a parede celular e injeta seu DNA na bactéria. Uma vez infectada, o fago pode entrar no ciclo lítico ou no ciclo lisogênico (Figura 32):
- Ciclo lítico: o material genético viral se replica no citoplasma bacteriano, libera enzimas líticas que fragmentam o DNA da bactéria e ocorre a síntese protéica de revestimento dos novos fagos. Nesse processo, fragmentos do DNA da bactéria são envelopados juntamente com o DNA viral. Quando ocorre a lise da célula bacteriana, os bacteriófagos são liberados e ao infectar novas células bacterianas, transmitirão o DNA da célula destruída.
 - Ciclo lisogênico: conhecido também como fago temperado. Neste, o material genético viral se insere no DNA bacteriano e permanece latente durante várias gerações bacterianas. As populações bacterianas formadas contêm o genoma do bacteriófago. Porém, fatores não determinados levam o fago a entrar no ciclo lítico, para poder haver a transferência do material genético para outra bactéria. Sendo assim, a bactéria infectada promove a replicação viral, este destrói por lise a bactéria e leva também o material genético da bactéria destruída, infectando uma nova bactéria. Ex. *Corynebacterium diphtheriae*: toxina diftérica, *Streptococcus pyogenes*: toxina escarlatínica, *Staphylococcus aureus*: enterotoxinas, *Escherichia coli*: citotoxinas.

Figura 30- Transformação bacteriana



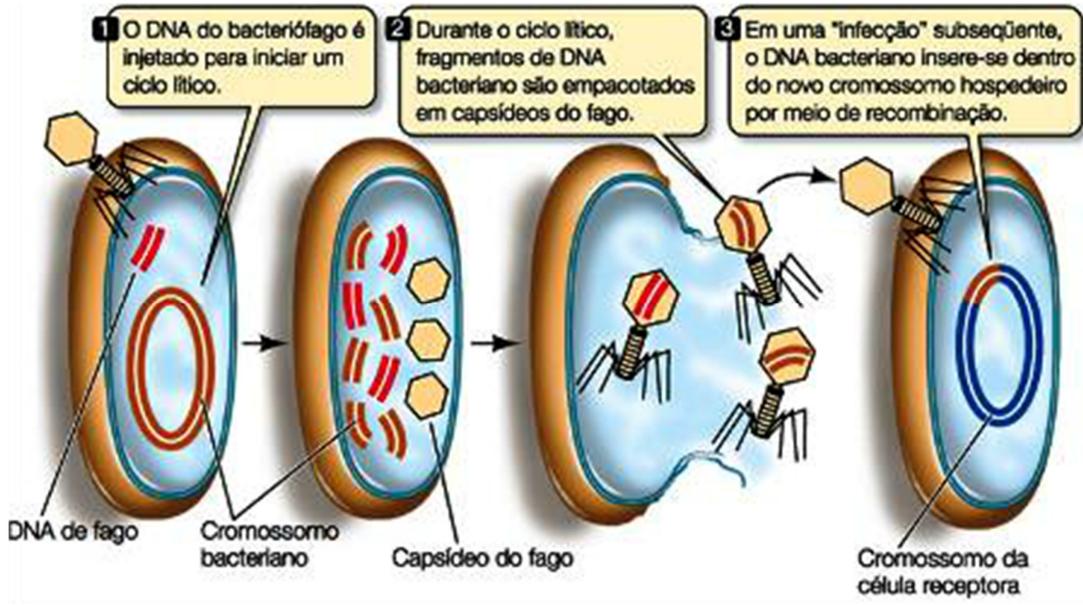
Fonte: <http://scienceblogs.com.br/meiodecultura/tag/transferencia-horizontal-de-genes/>

PERGUNTAS???



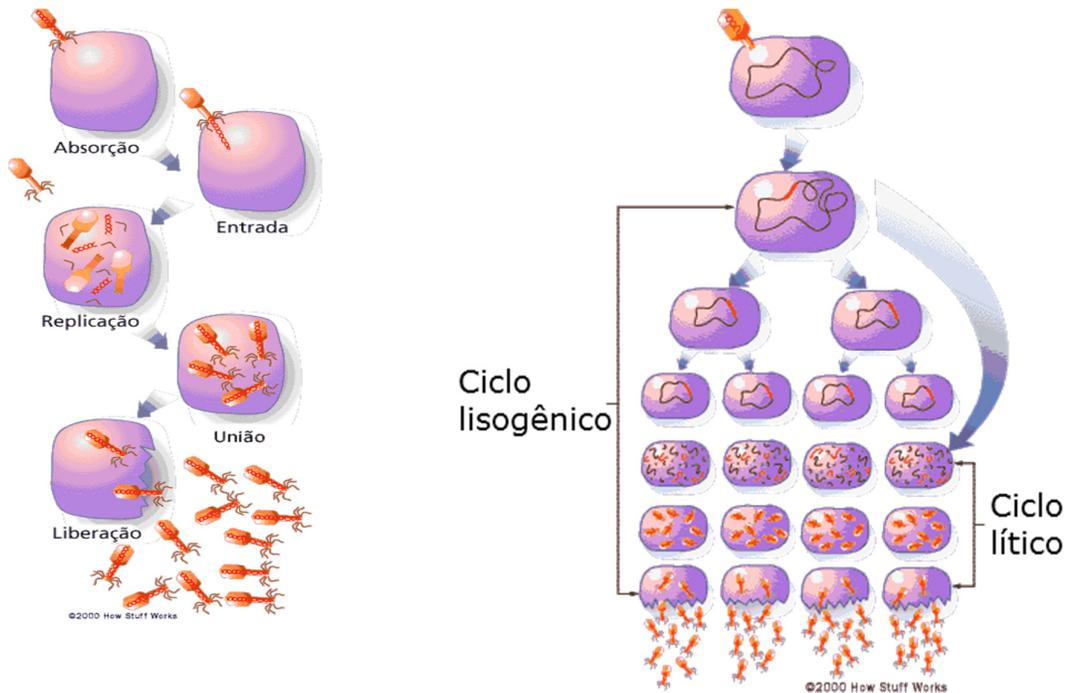
1. O processo de conjugação é uma das formas de multiplicação bacteriana?
2. O que diferencia a mutação pontual da mutação por deslocamento da fase de leitura?
3. Quais as propriedades de um plasmídeo?
4. Quando a bactéria poderá transferir também a cópia do DNA via fimbria conjugativa?

Figura 31- Transferência de material genético por transdução



Fonte: <http://scienceblogs.com.br/meiodecultura/tag/transferencia-horizontal-de-genes/>

Figura 32- Tipos de transdução: 1. Ciclo lítico e 2. Ciclo lisogênico.



Fonte: 1. <http://static.howstuffworks.com/gif/virus-human-lytic.gif>;
 2. <http://www.oralchelation.com/viewpoint/images/virus2.gif>

AREGAÇANDO AS MANGAS!!!



Descubra como estes três processos de transferência gênica foram descobertos, baseados em que experimentação.

UNIDADE 7 ANTIMICROBIANOS

1. HISTÓRICO E IMPORTÂNCIA

Os antimicrobianos são substâncias produzidas por um organismo ou obtidas sinteticamente, que destrói ou inibe o crescimento dos microrganismos. A ação destas substâncias químicas dá-se de forma seletiva sobre as células invasoras patogênicas.

Documentos antigos indicam que preparações de plantas e animais, pão, queijo mofados, soja fermentada foram utilizados de forma empírica contra doenças infecciosas. Antes da era da microscopia (1674) por A. V. Leeuwenhoek, havia pouca esperança de cura entre os enfermos. A doença meningite causada por *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* ou *Streptococcus pneumoniae* apresentava 100% de letalidade e diminuiu para aproximadamente 2 a 10% após a descoberta dos antibióticos.

Paul Ehrlich, em 1872, considerado o pai da quimioterapia, médico alemão, estudou composto contendo arsênico para tratamento da sífilis. Recebeu o Prêmio Nobel (1908) pela descoberta do SALVARSAN, um derivado arseniacal.

Alexandre Fleming, em 1929, descobriu a penicilina, sendo o primeiro antibiótico de utilidade clínica. Descoberto em 1928, permaneceu como curiosidade até 1939 e, em 1941, foi usado pela primeira vez em um policial de Oxford, com septicemia estafilocócica. Florey e Chain, em 1944, utilizaram cultura submersa de *Penicillium*, obtendo um rendimento de mil vezes mais na quantidade de penicilina produzida. Em 1959, passou-se a produzir as penicilinas semi-sintéticas.

2. DETERMINAÇÃO DA AÇÃO DOS QUIMIOTERÁPICOS

- a) Concentração inibitória mínima (MIC): concentração que resulta em inibição de 99% dos microrganismos (mínimo que deve atingir o sítio de ação). Utilizam-se diluições seriadas de uma droga em contato com uma suspensão padronizada de bactérias, a concentração inibitória mínima é determinada a partir do tubo contendo a concentração mais baixa do agente capaz de inibir o crescimento da bactéria.
- b) Difusão ou método de Kirby-Bauer: método que avalia a sensibilidade dos microrganismos a determinados antimicrobianos. Neste método ocorre difusão no meio de cultura do antimicrobiano contido em discos de papel, resultando na formação de halo de inibição. É um dos métodos mais utilizados e fornece informações importantes, embora não seja um dos métodos mais avançados.

3. FAMÍLIAS DE DROGAS USUAIS E SUA AÇÃO SOBRE AS BACTÉRIAS

- Penicilinas, cefalosporinas (β -lactâmicos): ligam-se as PBPs e enzimas responsáveis pela síntese da parede celular;
- Tetraciclínas: liga-se aos ribossomos 30S, impedindo o alongamento do polipeptídeo;
- Macrolídeos: liga-se aos ribossomos 50S, impedindo o alongamento do polipeptídeo;
- Aminoglicosídeos: próprios para bactérias aeróbias, liga-se ao ribossomo 30S interferindo na síntese protéica;

- Fluoroquinolonas: inibe a replicação do DNA;
- Outros: trimetoprim-sulfametoxazol, uma combinação sinérgica de quimioterápicos que interfere no metabolismo intermediário, impedindo a síntese do ácido fólico; vancomicina inibe as ligações cruzadas entre as camadas de peptidoglicano.

4. CLASSIFICAÇÃO DOS ANTIMICROBINOS

a) Com base na origem:

- Naturais (penicilina G e V).
- Semi-sintéticos (aminopenicilinas).
- Sintéticos (Sulfamidas).

b) Com base na ação biológica:

- Bactericidas: ocasionam a morte da célula de forma direta. Ex. penicilinas, polimixinas, quinolonas etc.
- Bacteriostáticos: interfere na multiplicação dos microrganismos de modo a permitir que as defesas do hospedeiro se encarreguem de destruí-los. Ex. sulfonamidas, tetraciclina etc.

c) Quanto ao espectro de ação:

- Espectro estreito: a droga atua sobre um menor número de espécies.
- Espectro amplo: a droga atua sobre um maior número de espécies.

Alguns exemplos: oxacilina contra Gram-positivos; aminoglicosídeo contra Gram-negativas; metronidazol contra anaeróbios; ceftriaxona contra Gram positivos e negativos.

Quando se conhece a etiologia da doença devem-se prescrever sempre drogas de menor espectro, usar a de maior potência e, se não surtir efeito, trocar o mais rápido possível para uma de maior potência.

d) Com base no mecanismo de ação:

- Antibióticos β -lactâmicos: inibem a formação da parede celular, ligando-se as proteínas de ligação (pontes peptídicas) na formação do peptidoglicano;
- Aumentam a permeabilidade da membrana, diminuindo, assim, a sua capacidade semi-seletiva;
- Inibição da síntese de proteínas atuando sobre o ribossomo, o que resulta em formação de proteínas aberrantes e interrupção da síntese protéica;
- Inibição da síntese de ácidos nucleicos: podem interferir no processo de transcrição ou tradução.
- Inibição da síntese de metabólitos: o uso de sulfanilamida, um análogo do ácido paraminobenzóico (PABA), que é o precursor na formação do ácido fólico, impede que a enzima converta o PABA em ácido fólico.

5. CARACTERÍSTICAS DE UM ANTIMICROBIANO IDEAL

- Ação bactericida;
- Espectro o mais específico possível;
- Menor MIC;
- Maior nível no local da infecção;

- Melhor comodidade posológica;
- Compatível com o estado clínico do paciente;
- Menos tóxico (toxicidade seletiva);
- Menor custo.

6. PRINCIPAIS MICRORGANISMOS PRODUTORES DE ANTIBIÓTICOS

Os microrganismos produtores de antibióticos são facilmente isolados do ambiente. Muitos são bactérias filamentosas, a exemplo de *Streptomyces* sp. produtores de anfotericina B, cloranfenicol, clortetraciclina e tetraciclina, eritromicina, neomicina e estreptomicina. Entre os fungos produtores destacam-se *Cephalosporium* spp. (cefalosporina) e *Penicillium* spp. (penicilina).

7. RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS

A resistência aos antibióticos pode ser intrínseca ou adquirida, na qual três mecanismos se destacam:

- a) Inativação ou destruição do antimicrobiano, a exemplo da produção de β -lactamase por bactérias que adquiriram resistência a penicilina natural;
- b) Evitar que o antimicrobiano entre na célula
- c) Evitar que o antimicrobiano ligue-se ao sítio alvo ou alteração do sítio alvo, para que a droga não desenvolva a ação;
- d) Bomba de efluxo: a droga entra e rapidamente é eliminada
- e) Uso de uma via bioquímica alternativa.

As mutações ocorridas exercem um papel importante, facilitando o microrganismo adquirir resistência, assim como as formas de transferência de genes, os plasmídios transferidos e a transposição de genes, a formação de biofilme.

SAIBA MAIS!!!



Como evitar o surgimento de resistência?

- Evitar o uso indiscriminado de antibióticos que têm pouco ou nenhum valor terapêutico;
- Utilizar dosagens suficientemente altas de um antibiótico apropriado para dominar uma infecção rapidamente;
- Utilizar o antibiótico pelo tempo recomendado;
- Utilizar uma combinação de antibióticos de eficiência comprovada;
- Mudar para um antibiótico diferente tão logo um organismo mostre sinais de resistência.

PRÁTICA 4: ANTIBIOGRAMA

1. Introdução

O antibiograma é um teste utilizado para avaliar a sensibilidade de uma bactéria frente a diversos antimicrobianos. Este teste tem como finalidade orientar a terapia de modo que ela seja segura e eficaz.

Para se realizar um antibiograma, é necessário a obtenção de uma cultura pura. A maioria dos microrganismos apresenta uma variação muito grande quanto à sensibilidade, mostrando muitas vezes resistência múltipla a diversos antimicrobianos. Não é indicado o teste de antibiograma quando o microrganismo isolado faz parte da microbiota normal ou quando o microrganismo for considerado um contaminante. Também não se faz para aqueles que apresentam menor capacidade de mutação.

Existem várias técnicas para realizar um antibiograma, onde a mais utilizada pela sua praticidade é o de difusão utilizando disco de papel (método de Kirby-Bauer). Baseia-se na inibição do crescimento de um microrganismo semeado na superfície de um meio de cultura, onde se colocou discos de papel de filtro, impregnado com um antimicrobiano de concentração padronizada. A leitura é feita 18 a 24 horas após a incubação, avaliando-se o diâmetro do halo de inibição ao redor do disco. Os halos de inibição são medidos em mm e a medição é feita no fundo da placa. Os resultados são comparados com os de uma tabela, onde estão relacionados os tamanhos dos halos indicando sensibilidade ou resistência às drogas. Existem vários fatores que podem interferir no resultado do antibiograma levando com frequência a resultados falsos, entre estes podem ser citados:

- Preparação imprópria do meio de cultura: o meio indicado para realização do antibiograma é o ágar Mueller-Hinton. Para bactérias exigentes que não crescem satisfatoriamente neste meio utiliza-se o meio agar-sangue. As placas devem ser colocadas sob refrigeração (2-8°C/12h), e antes do uso colocá-las em estufa a 37°C para eliminar o excesso de umidade.
- Discos fora de validade ou impropriamente estocados: os discos de antibióticos devem ser mantidos sob refrigeração (2-8°C) e retirados um pouco antes do uso.
- Inóculo não padronizado: a suspensão bacteriana deve ser ajustada a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL com o auxílio da escala de MacFarland (tubo 0,5).
- Leitura prematura do teste antes de 16 – 18h.
- Medição errada dos diâmetros do halo de inibição.
- Uso de cultura contaminada.

2. Material

Cultura pura do microrganismo, placa de Petri contendo o meio Mueller-Hinton, “swab”, tubos com água estéril, discos para antibiograma, pinça, becker com álcool 96°.

1. Procedimento

a) Fazer uma suspensão da bactéria isolada com água estéril em tubo, obedecendo à concentração comparativa com o tubo 0,5 da escala de MacFarland;

- b) Umedecer o swab com a suspensão de microrganismo e semear espalhando na superfície da placa de ágar Mueller-Hinton, em três direções, para que toda a superfície fique semeada;
- c) Colocar os discos de antibióticos com a pinça pressionando-os levemente para que fiquem aderidos ao meio de cultivo;
- d) Levar as placas preparadas para a refrigeração durante 30 minutos;
- e) Incubar as placas na estufa 36°C durante 18 a 24h;
- f) Fazer a leitura, medindo-se o diâmetro do halo formado e comparar com os dados da tabela;
- g) Interpretar os resultados.

UNIDADE 8

CONTROLE DE MICRORGANISMOS

1. IMPORTÂNCIA DO CONTROLE DE MICRORGANISMOS

O controle de microrganismos deve ser realizado para evitar a proliferação das espécies patogênicas, o surgimento de doenças infecciosas, além de evitar a deterioração dos equipamentos e dos alimentos. Devem-se adotar medidas que não favoreça a sua proliferação de forma indesejável.

Os microrganismos apresentam graus de sensibilidade variável, conforme o tipo e a forma. São capazes de formar estruturas de resistência que suportam condições adversas, as quais outros seres, inclusive o homem, não suportaria.

O controle de microrganismos pode ser realizado por métodos físicos e químicos. Entretanto, na escolha de um dos métodos, devem-se considerar alguns aspectos importantes: se o método selecionado é eficiente, se não danifica ou interfere no material a ser esterilizado, a praticidade do método, o custo, os danos ambientais ou nos materiais etc.

Os métodos físicos são os mais usuais, eficientes e seguros no controle de microrganismos. Porém, alguns materiais apresentam limitações, de modo que não deve ser controlado por qualquer método.

Para se entender o controle de microrganismos, é necessário compreender alguns termos relacionados, tais como:

- a) Esterilização: utilização de um método capaz de eliminar ou destruir todas as formas de vida existente no material ou no ambiente. Autoclave, filtro, raio x, forno de Pasteur, flambagem;
- b) Desinfecção: utilização de um desinfetante capaz de destruir as formas vegetativas patogênicas ou inconvenientes, em material inanimado, porém com limitações para destruir as formas de resistência. Exemplo: álcool 70%, álcool iodado, cloro, clorofina, água fervente;
- c) Antissepsia: utilização de um antisséptico capaz de destruir as formas vegetativas patogênicas ou contaminantes, em organismo vivo, porém com limitações para destruir as formas de resistência. Exemplo: álcool 70%, álcool gel, álcool iodado, clorexidina 1%, cepacol;
- d) Degermação: utilização de substância capaz de solubilizar e eliminar as impurezas e juntamente com elas os microrganismos também são eliminados. Ex. sabonete, detergente;
- e) Assepsia: utilizar um conjunto de medidas físicas ou químicas que possam evitar a presença, a entrada ou a proliferação de microrganismos.

2. MÉTODOS UTILIZADOS NO CONTROLE DE MICRORGANISMOS

2.1. MÉTODOS FÍSICOS

- 2.1.1. Calor: o calor pode ser úmido no qual ocorre desnaturação de proteínas ou seco promovendo a oxidação protéica.

2.1.1.1. Calor úmido:

a) Calor úmido sem pressão:

- Água em ebulição: água a temperatura acima de 60°C por 30 minutos destrói as formas vegetativas dos microrganismos, sem afetar as formas esporuladas. Alguns vírus (um dos tipos de vírus da hepatite) sobrevive até 30 minutos de fervura e alguns endósporos bacterianos resistem várias horas.
- Pasteurização: processo utilizado para destruir os microrganismos patogênicos sem importar os demais. Geralmente é utilizado na pasteurização do leite, alimentos, substratos. No leite, visa destruir as bactérias *Mycobacterium bovis* (tuberculose bovina), *Coxiella burnett* (febre Q) e os coliformes. A pasteurização pode ser lenta 63°C durante 30 minutos; rápida 72°C durante 15 segundos. Convencionou-se chamar a técnica temperatura ultra-elevada (UHT) como pasteurização, realizada a 140°C por 1 a 3 segundos. No entanto, esta técnica elimina praticamente todos os microrganismos, e foge, portanto, ao conceito de pasteurização. Nos dois tipos de pasteurização, após o aquecimento o material é submetido ao resfriamento para manter a população microbiana restante sem se multiplicar e diminuir o metabolismo.
- Tindalização: consiste em ferver o material e manter a temperatura ambiente durante 24 a 48 horas e ferver pela segunda vez. Por essa técnica é possível também ser eliminado os esporos de bactérias. Técnica indicada para a preservação de conservas.

b) Calor úmido com pressão: o vapor sob pressão é a forma mais segura de destruir todas as formas de vida microbiana. A autoclave é um equipamento indispensável nos laboratórios de Microbiologia. A esterilização ocorre com a temperatura a 121°C (1atm) durante 20 minutos, dependendo da natureza do material, do volume e da concentração de microrganismos. Material com volume maior é necessário aumentar o tempo de esterilização. O calor úmido se propaga mais rapidamente, sendo este um dos métodos mais rápidos de esterilização para grandes volumes. É necessário que o ar seja substituído pelo vapor úmido no interior da autoclave, garantindo a qualidade da esterilização. Alguns materiais não devem ser esterilizados em autoclave, como as substâncias sensíveis ao calor e a umidade (vitaminas, pó, papel), materiais cortantes e substâncias oleosas.

2.1.1.2. Calor seco:

- a) Flambagem: ação direta da chama do bico de Bunsen sobre agulha ou alça de platina até esta ficar incandescente, tornando-a esterilizada;
- b) Incineração: combustão de material contaminado, bastante utilizado para material hospitalar como sacos, copos, bandagens, agulhas etc.
- c) Forno de ar quente ou forno de Pasteur: equipamento no qual são acondicionados os materiais (vidrarias, papeis etc. devidamente embalados) e aquecidos a 170°C por 2 horas, obtendo-se a esterilização. Temperatura mais baixa requer maior tempo de exposição: 160°C/3h, 120°C/16h. O calor seco necessita de temperatura mais alta e

por tempo mais prolongado que a esterilização pela autoclave, pois a propagação do calor no ar seco é mais lenta.

2.1.2. Filtração: passagem de líquido por um filtro com poros microscópicos (0,22µm) com capacidade de reter os microrganismos. Os mais usados são os filtros de membrana (ésteres de celulose) permanentes ou descartáveis. É necessário a utilização de compressor para criar um vácuo na sucção do líquido através do filtro. O mecanismo verificado neste método é a separação dos microrganismos do material a ser esterilizado. Alguns micoplasmas (menores bactérias, sem paredes) e vírus não são retidos no filtro. Entre os materiais a serem filtrados, destacam-se aqueles sensíveis ao calor (enzimas, vacinas, antibióticos) Existe, ainda, os filtros HEPA (high efficiency particulate air), onde o ar é filtrado, geralmente utilizado em salas de cirurgia e enfermarias de pacientes com queimaduras.

2.1.3. Radiação: mecanismo de ação ocorre por danos no DNA. Este método apresenta limitações, como tempo prolongado de exposição, além disso, as radiações não ionizantes (raios ultravioleta) são incapazes de atravessar superfícies, indicados para ambientes limpos e livres de equipamentos. Já as radiações ionizantes (raio X, raios gama) são penetrantes e mais eficientes. São bastante aplicados no controle microbiológico de materiais de laboratório (material descartável, material cirúrgico, dentário, seringas), medicamentos e alimentos. As radiações ionizantes devem ser utilizadas com equipamentos de segurança devido os efeitos causados nos operadores despreparados. A luz ultravioleta também é cancerígena à exposição prolongada.

2.2. MÉTODOS QUÍMICOS

Os métodos químicos são menos utilizados que os métodos físicos com fins de esterilização, pois a sua capacidade de esterilização é limitada, por serem tóxicos em altas concentrações, pela menor eficiência e requer tempo prolongado de exposição. Os métodos químicos são mais úteis como desinfetantes e antissépticos. Segue indicações sobre as principais substâncias químicas utilizadas (Quadro 1).

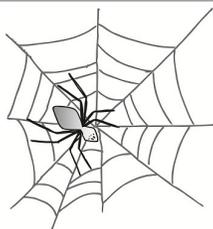
Quadro 1- Indicação sobre os principais agentes químicos utilizados no controle microbiano.

Agente	Espectro de ação	Uso	Modo de ação	Tempo de exposição	Desvantagem
Álcoois (70%)	Gram + Gram – BAAR	Antisséptico Desinfetante	Desnaturação protéica e dissolução lipídica	10-15 min.	Menos ativo para esporos
Fenóis	Gram + Gram – BAAR	Desinfetante	Desnaturação protéica	Efeito imediate	Corrosivo, fétido
Compostos quaternários de amônio	Gram + BAAR	Antisséptico Desinfetante	Alteração de membrana	10-30 min.	Não inativa esporos

Cloro	Gram + Gram – BAAR	Tratamento de água	Inativação enzimática e oxidante	Efeito imediato	Odor irritante Não inativa esporos
Iodo	Gram + Gram – BAAR	Antisséptico Desinfetante	Inativação enzimática	Efeito imediato	Odor irritante Não inativa esporos
Iodóforo (iodo com detergente)	Gram + Gram – BAAR	Antisséptico Desinfetante	Inativação enzimática	Efeito imediato	Menor natividade contra esporos
Aldeídos (gás)	Gram + Gram – BAAR	Desinfetante	Desnaturação protéica	Médio	Longa exposição
Metais pesados	Gram + Gram –	Antisséptico	Inativação enzimática	Efeito imediato	Não elimina esporos e BAAR

Fonte: NASCIMENTO, J.S. (2009)

TÁ NA WEB!!!



Assista ao vídeo sobre o controle de microrganismos, no youtube:

<http://youtu.be/Lfe5CYTzj7o>

<http://youtu.be/rYfbTV2puhE>

PRÁTICA 5: CONTROLE DE MICRORGANISMOS

1. Efeito do calor úmido sobre o crescimento bacteriano: ação da água fervente

- Semear com alça de platina 0,5mL da suspensão de *E. coli* em um dos quatro quadrantes de uma placa de Petri com ágar Mueller-Hinton. Colocar o tubo com a suspensão de *E. coli* em água fervente por 5, 10, 15 e 20 minutos. Após cada intervalo de tempo, realizar a semeadura em um dos quadrantes. Incubar as placas a 36°C/48h;
- Fazer o mesmo procedimento com uma cultura de *Bacillus* spp.;
- Interpretar os resultados.

2. Efeito do calor úmido sobre o crescimento bacteriano

- Ação de calor úmido na forma de vapor sob pressão: preparar uma suspensão de *E. coli* e outra de *Bacillus* spp. em tubo de ensaio;
- Semear em cada metade da placa com meio de cultivo (controle);
- Colocar as suspensões na autoclave à temperatura de 121 °C por 15 minutos;
- Semear cada uma das suspensões no ágar Mueller-Hinton;
- Incubar as placas a 36°C por 48h;
- Interpretar os resultados.

3. Efeito da ação de antissépticos sobre o crescimento bacteriano

- a) Umedecer um “swab” estéril em água estéril, esfregar na mão e semear em um dos quadrantes da placa de Mueller-Hinton;
- b) Umedecer um segundo “swab” em álcool iodado, passar na outra mão e aguardar um minuto para semear no segundo quadrante;
- c) Lavar as mãos com sabão, umedecer outro “swab” em água estéril, passar na mão lavada e semear no terceiro quadrante da placa;
- d) Incubar as placas a 36°C por 48h;
- e) Interpretar os resultados.

UNIDADE 9

MICROBIOTA NORMAL DO CORPO

1. MICROBIOTA NORMAL

A microbiota normal refere-se a populações de microrganismos que habita a pele e mucosas de pessoas e de animais saudáveis. Esses microrganismos vivem como comensais, trazendo benefícios ao corpo. O corpo humano adulto possui em torno de 100 trilhões de microrganismos, sendo que antes do nascimento o feto é estéril.

2. COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA NORMAL

A microbiota normal é composta por:

- Residente: composta por microrganismos, sempre presentes no referido local, em maior quantidade, ou que rapidamente se renova após remoção. Não é removida com o banho, por exemplo.
- Transitória: microbiota temporária, adquirida conforme o grau de exposição e que depois de removida não mais coloniza o sítio. Esta microbiota é facilmente removida com a lavagem das mãos com o uso de sabonetes (degermação).

Entre os microrganismos que compõe a microbiota normal, existem três grupos distintos:

- Microrganismos estritamente patogênicos: são aqueles que ao serem detectados estão sempre associados à patologia. Ex. *Micobacterium tuberculosis*, vírus HIV;
- Microrganismos potencialmente patogênicos: são comuns de serem detectados, porém nem sempre associados com a patologia. São considerados comensais, que em determinadas condições podem se tornar nocivo ao organismo humano. Ex. *Staphylococcus epidermidis*;
- Microrganismos oportunistas: aqueles que são adquiridos, mas só desenvolve alguma patologia se o organismo estiver debilitado. Ex. *Candida albicans*.

Na qualidade de comensal, os microrganismos desempenham funções importantes ao organismo, pois participam da digestão alimentar, produzem vitaminas (vitamina K), secretam substâncias que impedem o crescimento de outros microrganismos, estabelecendo-se uma relação antagônica, ou relações sinérgicas, por exemplo, uma população precursora modifica o pH para uma população sucessora. As interações entre os microrganismos e entre hospedeiro e microrganismos são constantes e tanto podem resultar em aspectos positivos quanto maléficos ao hospedeiro.

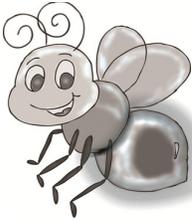
3. COMO SE ADQUIRE OS MICRORGANISMOS?

Os microrganismos são adquiridos a partir do nascimento, dos primeiros contatos com o mundo externo. Isso se dá pelo processo respiratório, pela ingestão de alimentos e água, por contato direto, por vetores, desde o início até o final da vida (Figura 33).

4. COLONIZAÇÃO/DOENÇA

A exposição do hospedeiro aos microrganismos pode ocasionar uma colonização transitória, colonizar de forma permanente ou ocasionar doença. As doenças infecciosas são ocasionadas pela presença direta do microrganismo no hospedeiro (infecção) ou simplesmente pela ingestão de toxinas (intoxicação).

FIQUE LIGADO!!!



- **Colonização:** é a multiplicação do microrganismo no hospedeiro, mas não interfere com as funções normais do corpo.
- **Doença:** doença infecciosa ocorre quando a interação entre microrganismo e o hospedeiro leva a um processo patológico. Qualquer alteração na normalidade da célula se caracteriza como doença.
- **Infecção:** entrada de microrganismos exógenos ou a multiplicação elevada dos que são residentes.
- **Intoxicação:** ação de uma toxina, ingerida junto com os alimentos ou produzida pelos microrganismos após uma infecção.

Figura 33- Formas de transmissão de microrganismos



Fonte: 1. http://2.bp.blogspot.com/_Rd7r9Y23g9A/Rx-UEyvZibI/AAAAAAAAABE/vSb4tBUY_n8/s400/c%C3%A3o.bmp; 2. http://3.bp.blogspot.com/_kv1uWWHayTQ/SVlIeo4Va3I/AAAAAAAAAZhA/IQAawwkL8_8/s400/espirro.jpg; 3. http://oglobo.globo.com/fotos/2007/12/11/11_MVG_viv_carnes_3253.jpg; 4. http://3.bp.blogspot.com/_BY-iWkqQTYA/R3-ikGx1hCI/AAAAAAAAATo/0SQOn34v5AY/s400/aperto+de+m%C3%A3o+2.bmp; 5. http://br.geocities.com/insecta_tv/Musca-domestica.JPG; 6. <http://www.meionorte.com/imagens/COL63Paciente-internada-no-HUT-morre-pouco-depois-de-receber-alta.-Parentes-de-pacientes-fazem-denuncias.jpg>; 7. http://3.bp.blogspot.com/_-IUr8M7oFb4/R-e0Rt-XpDI/AAAAAAAAA0o/vF2ScjBIXD8/s400/arranhao.jpg.

5. ÁREAS DO CORPO HUMANO COLONIZADAS POR MICRORGANISMOS

Os microrganismos são comumente encontrados na conjuntiva, mucosa nasal, mucosa oral, faringe, pele, intestino grosso, reto, uretra e órgãos genitais. Já o ouvido médio e interno, músculos, bexiga, glândulas, útero, fígado, baço, cérebro, rins devem ser livres de microrganismos.

As áreas colonizadas por microrganismos são influenciadas por fatores de colonização, de modo que a população seja estável. Cada grupo de microrganismo tem seu sítio receptor. Assim, fora desse sítio, pode não haver colonização ou trazer danos ao hospedeiro. Por exemplo, bactérias intestinais que colonizam a mucosa vaginal podem ocasionar uma infecção urinária.

O corpo apresenta mecanismos próprios para evitar o crescimento excessivo dos microrganismos, por exemplo, alteração do pH, produção de enzimas líticas (lisozima na lágrima e no muco), acidez estomacal, a pele, os pêlos, o jato de urina etc. (Figura 34).

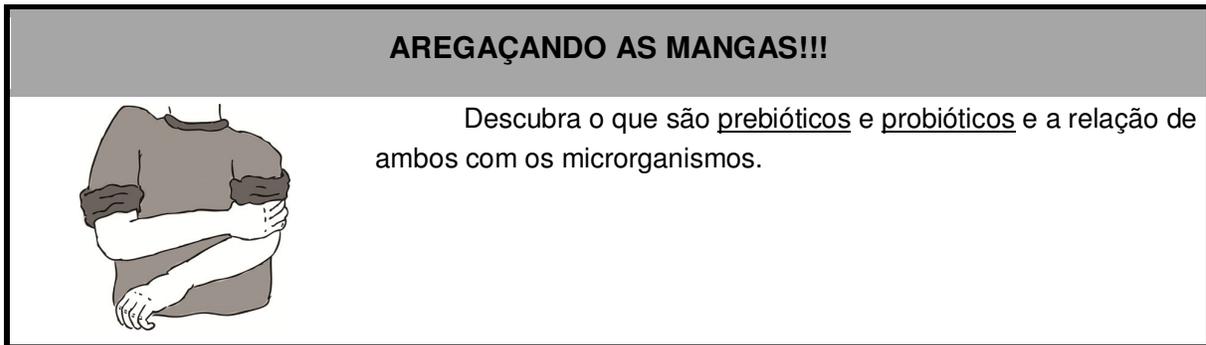
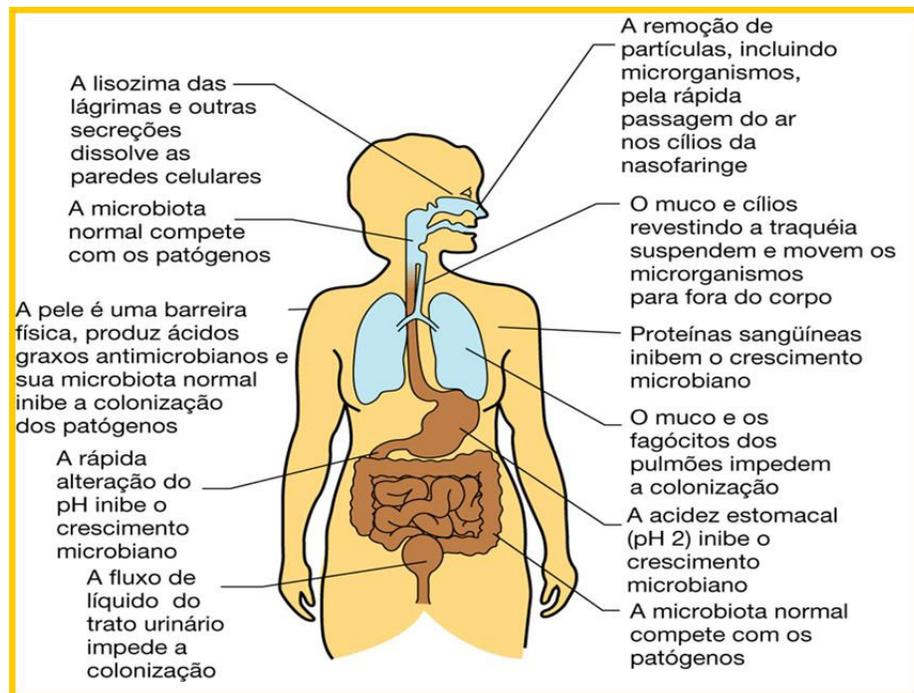


Figura 34- Locais colonizados pelos microrganismos e os fatores limitantes a uma colonização normal.



Fonte: MADIGAN, MARTINKO, PARKER (2004).

Estudos têm mostrado que as doenças infecciosas mais comuns são as causadas por microrganismos da microbiota normal. Isso acontece devido: a transferência de microrganismos de um sítio para outro (ex. mãos contaminadas na boca), diminuição da microbiota competitiva (exemplo: uso de antibióticos interfere na microbiota residente e outra população pode se sobressair), em indivíduos imunocomprometidos (exemplo: qualquer microrganismo pode se sobressair).

Cada microrganismo tem uma porta de entrada principal, como por exemplo:

- a) Membranas mucosas do trato respiratório (nariz e boca): contrai microrganismos causadores de pneumonia, tuberculose, sarampo etc. Microrganismos mais comuns na boca, orofaringe e nasofaringe: *Peptostreptococcus*, *Veilonella*, *Actinomyces*, *Fusobacterium*, *Streptococcus*, *Haemophilus*, *Neisseria*;
- b) Trato gastrintestinal: são transmitidos pelos alimentos contaminados, água e dedos. Esses microrganismos podem ser destruídos pelo HCl, enzimas do estomago, bile e enzimas do intestino delgado. Ex: microrganismos causadores de hepatite, febre tifóide, cólera, salmonelose etc. Microrganismos mais comuns no intestino: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* e ainda as enterobactérias e os bacteróides. No intestino grosso pode ser encontrada mais de 10^{11} bactérias/g de fezes com bactérias anaeróbias excedendo em mais de mil vezes as aeróbias.
- c) Pele: a pele íntegra é uma barreira natural, na qual poucos microrganismos conseguem colonizá-la. Mas lesões e escoriações mínimas são suficientes para haver colonização, a exemplo das doenças furúnculo, impetigo, erisipela, tétano. Microrganismos comuns na pele: *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Peptostreptococcus*;
- d) Via parenteral: ocorre colonização após punção, injeção, picadas, cortes, cirurgias, ferimentos etc.
- e) Microbiota do aparelho urinário: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* (coagulase negativa).

6. VANTAGENS E DESVANTAGENS DA MICROBIOTA NORMAL

As vantagens da microbiota normal consistem em impedir a colonização de patógenos causadores de prováveis doenças, produção de vitaminas e estimular o sistema imune. A desvantagem é que esses microrganismos podem causar doenças em determinadas circunstâncias.

UNIDADE 10

FATORES DE VIRULÊNCIA DAS PRINCIPAIS BACTÉRIAS PATOGÊNICAS

No processo infeccioso, é necessário uma série de eventos, desde o estabelecimento da infecção ou multiplicação excessiva de bactérias endógenas até a expressão dos fatores de virulência. Os fatores de virulência estão relacionados a componentes estruturais (parede, cápsula, fímbrias, plasmídios, flagelo), as enzimas e as toxinas.

1. ENTRADA DO MICRORGANISMO

Ao infectar o hospedeiro, a bactéria usa de mecanismos para se livrar das defesas do corpo. A existência de lesões, queimaduras, fibrose cística, idade do hospedeiro, local infectado, quantidade de microrganismos etc., favorece o estabelecimento deste microrganismo. Cada microrganismo se utiliza de uma forma para poder chegar até o hospedeiro, conforme visto na unidade 9.

2. ADERÊNCIA E INVASÃO

Após a entrada do microrganismo, é necessário que ocorra aderência às células epiteliais ou endoteliais, através das fímbrias (Figura 35), produtoras de adesinas. Essas moléculas de superfície no patógeno se unem especificamente aos receptores de superfície no hospedeiro (glicoproteínas ou lipoproteínas), evitando a remoção do microrganismo. Outros componentes celulares também exercem essa mesma função, como o ácido lipoteicóico e outras proteínas de superfície. As bactérias invasivas podem, inclusive, invadir células de defesa para iniciar a infecção. Exemplos:

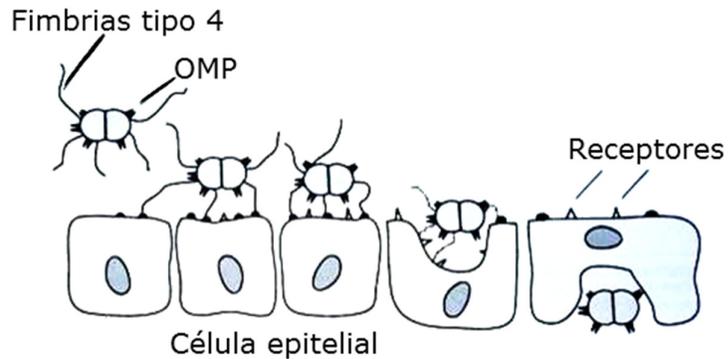
- *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC) possui pili tipo 1 (D-manose-células epiteliais), que promove adesão às células epiteliais do intestino delgado e destruição das vilosidades. O pili formador de feixes favorece a formação de microcolônias em um pedestal. A EPEC insere um receptor de intimina (Tir) na membrana da célula epitelial que funciona como receptor para a intimina de invasão.
- *Neisseria gonorrhoeae* (causadora da gonorréia) possui fímbrias tipo 4 (pilina), para aderência às células do epitélio colunar não ciliado, depois ocorre uma adesão mais íntima ao epitélio mais profundo, com endocitose direcionada pelo patógeno. Somente após essa aderência, é que ocorre a multiplicação dos microrganismos.

AREGAÇANDO AS MANGAS!!!



A bactéria *Mycobacterium tuberculosis* não produz toxinas e enzimas como fatores de agressão ao hospedeiro. No entanto, é causadora da tuberculose. Descubra como essa doença desenvolve-se no hospedeiro.

Figura 35- Bactérias que se utiliza das fímbrias como fator de virulência: 1. *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC) e *Neisseria gonorrhoeae*.



Fonte: 1.http://nursextime.files.wordpress.com/2008/11/escherichia_coli.jpg;
2. TRABULSI et al. (2004).

3. MULTIPLICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS NO TECIDO

Os microrganismos se multiplicam rapidamente após ocorrer à infecção, como uma forma de vencer as células de defesa. Os que apresentam multiplicação lenta, a exemplo do *Mycobacterium tuberculosis* e *M. leprae*, utilizam-se de outros mecanismos para persistir. Estes apresentam uma parede celular rica em ácido micólico, a qual minimiza os efeitos das células de defesa (colonização intracelular) e a entrada de substâncias nocivas na célula.

A partir da multiplicação, o microrganismo poderá ocasionar uma doença localizada ou sistêmica e produzir enzimas e toxinas como mecanismos de agressão ao hospedeiro.

4. CÁPSULA OU GLICOCÁLICE

Alguns microrganismos podem apresentar cápsula/glicocálice, que impede a fagocitose. Quando uma bactéria patogênica perde a cápsula, seu poder de virulência diminui, além desta bactéria se tornar suscetível à lise.

- *Streptococcus pneumoniae* (causador de pneumonia): forma cápsula.
- *Streptococcus mutans* (associado à cárie): forma biofilme em decorrência do glicocálice.

5. COMPONENTES DA PAREDE CELULAR

A parede celular dos microrganismos apresenta particularidades em relação aos mecanismos de patogenicidade. Alguns componentes são antigênicos, a exemplo do LPS (lipídeo A) das bactérias Gram negativas e do Peptidoglicano das Gram positivas. Além destas, as micobactérias apresentam ácido micólico.

- Lipídeo A: endotoxina liberada pelas bactérias Gram negativas após lise celular. São relativamente estáveis, fracamente antigênica, moderadamente tóxicas. Produzem febre e outros efeitos no hospedeiro.
- Ácido teicóico e lipoteicóico: são ligantes as células epiteliais, em *S. pyogenes*.
- Proteína M: uma cadeia protéica comum em *Streptococcus pyogenes*, (adesinas).
- Ácido micólico: camada impermeável em *Mycobacterium* spp., que impede a entrada ou saída de substâncias.
- Peptidoglicano: semelhante à endotoxina, sendo mais fracamente ativo, estimula a produção de pirogênio, comum as Gram positivas.

6. PLASMÍDEO E BACTERIÓFAGOS

Muitas bactérias adquirem a capacidade de ser virulenta através do recebimento de um plasmídeo, com informação genética específica ou ao serem infectadas por bacteriófagos. Estes transportam informação genética que confere patogenicidade a uma bactéria.

Plamídios: codificam para a síntese de toxinas, adesinas, cápsulas, fímbrias etc., sendo adquiridos através da conjugação.

Bacteriófagos: por conversão lisogênica, permitem a expressão de novas características, como a toxina diftérica (*Corynebacterium diphtheriae*): toxina escarlatínica (*Streptococcus pyogenes*), enterotoxinas (*Staphylococcus aureus*) citotoxinas (*Escherichia coli*).

7. ENZIMAS

- Coagulase: enzima que converte o fibrinogênio em fibrina. Com a formação de coágulos a bactéria estará protegida da fagocitose. Esta enzima é importante para diferenciar as espécies, onde o *Staphylococcus aureus* é coagulase positiva e as demais negativa.
- Catalase: transforma o peróxido de H em $O_2 + H_2O$. Todos os *Staphylococcus* são catalase positiva e os *Streptococcus* são negativos. A bactéria produtora de catalase elimina os radicais peróxido e superóxido do metabolismo oxigenativo, melhorando a condição do meio.
- Hialuronidase: hidrolisa o ácido hialurônico no tecido conjuntivo, promovendo a disseminação dos *Staphylococcus* no tecido.
- Fibrinolisa: enzima que dissolve coágulo de fibrina, quando ocorre naturalmente uma coagulação, mecanismo este utilizado para a bactéria se disseminar.
- Lipases: hidrolisa lipídios.
- Nucleases: hidrolisa DNA.
- Penicilinase: hidrolisa o anel betalactâmico da penicilina (β -lactamases).

8. TOXINAS

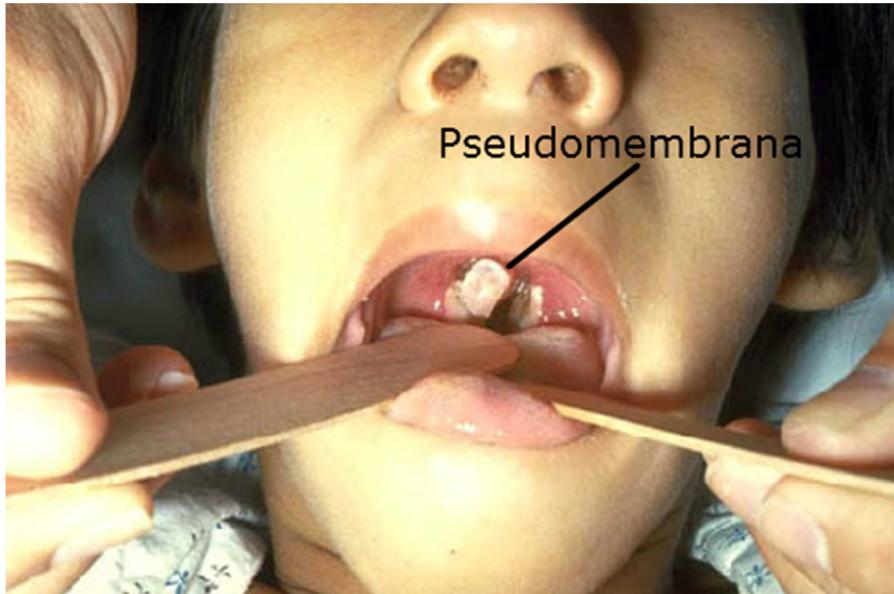
As toxinas alteram as funções e causa morte celular. Estas substâncias são produzidas durante o metabolismo da bactéria e liberadas no hospedeiro ou nos alimentos. Algumas delas são termoestáveis e outras termosensíveis. São as substâncias mais potentes produzidas por microrganismos, com efeito letal mesmo em pequena quantidade, dependendo da toxina.

- Toxina diftérica: produzida pelo *Corynebacterium diphtheriae* (causador da difteria) (Figura 36) somente quando infectado por um fago lisogênico transporta o gene tox. A bactéria pode causar infecções em diferentes órgãos, sendo a forma faríngea a mais comum.

Após infectar a orofaringe, há formação de um exsudato espesso, cinzento e aderente (pseudomembrana), que recobre a garganta, forma fibrina, tecido necrótico, leucócitos. Ocorre obstrução respiratória, arritmias cardíacas, coma e morte.

A toxina diftérica é do tipo AB, onde o fragmento B liga-se à membrana celular e a subunidade A se dissocia e inativa o fator de alongamento EF-2, necessário para o movimento das cadeias dos peptídeos. Provoca a inibição da síntese proteica.

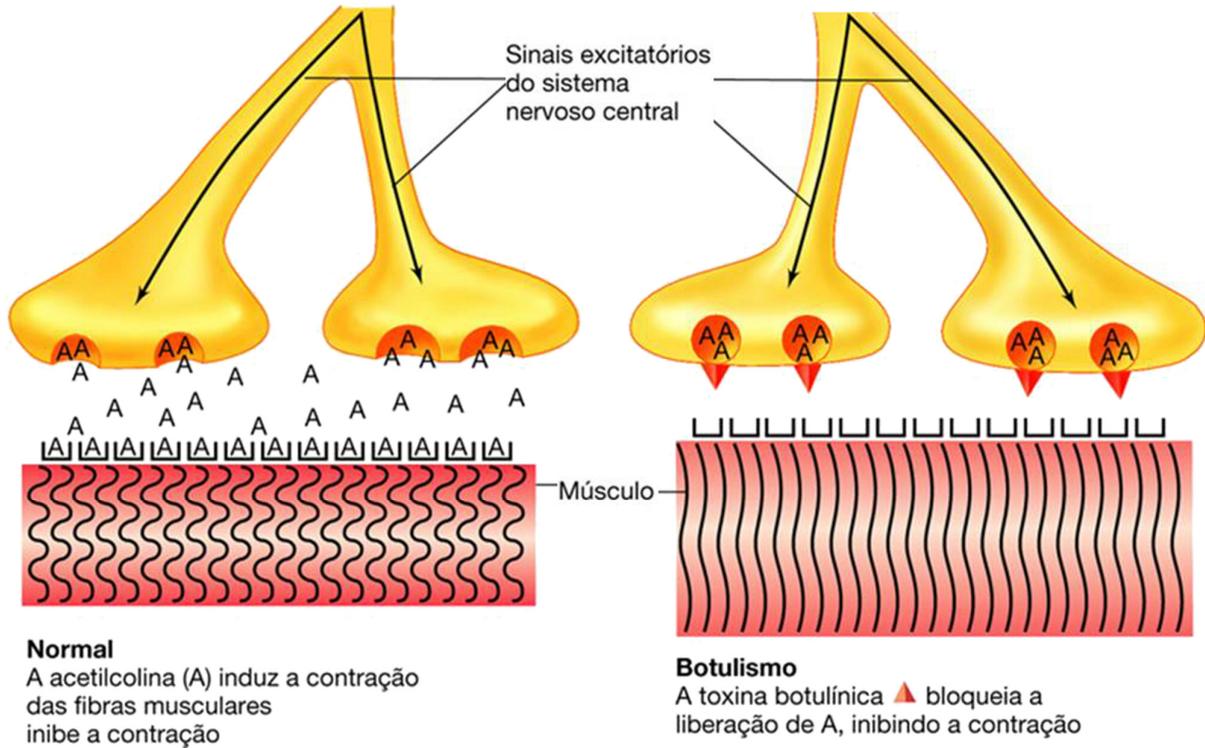
Figura 36- Exsudato espesso e aderente (pseudomembrana), que recobre a garganta na difteria.



Fonte: <http://nationalnursingreview.com/2010/12/what-is-diphtheria/>

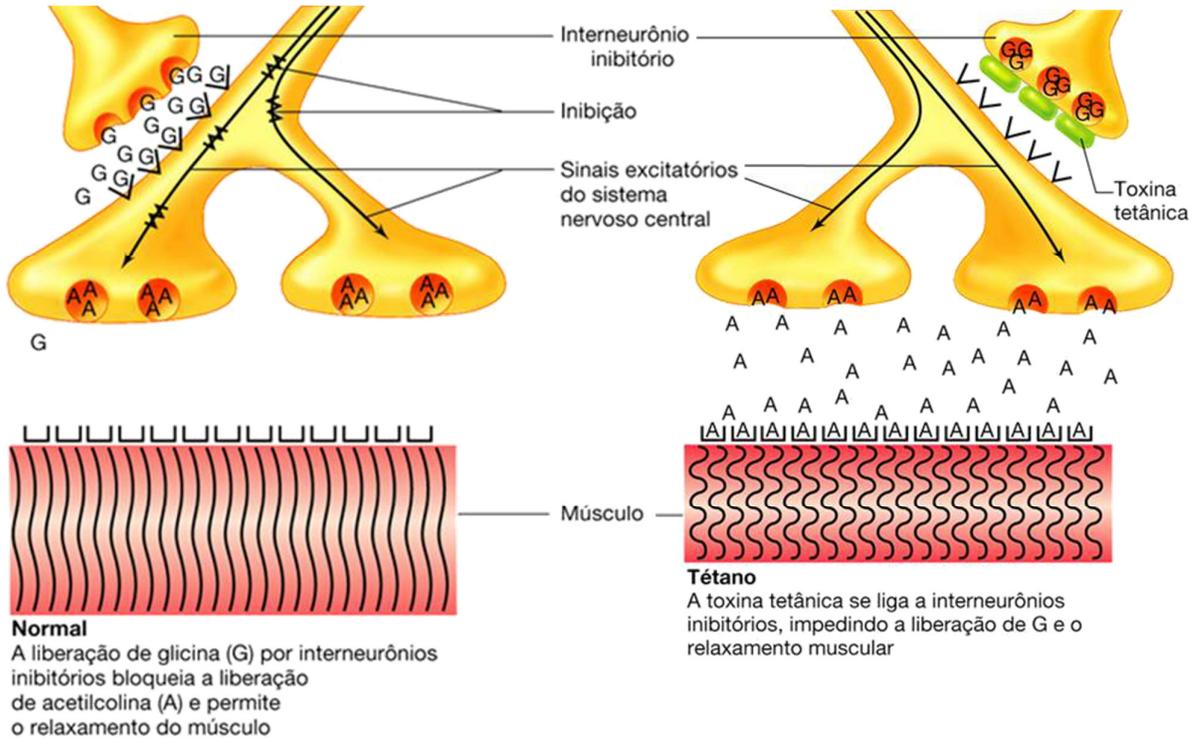
- Neurotoxinas: altera os impulsos nervosos as funções e morte celular tanto na toxina botulínica quanto na tetânica.
 - a) Toxina botulínica é produzida pelo *Clostridium botulinum*. Une-se a membrana neuronal nos terminais nervosos e entra por endocitose. A toxina botulínica bloqueia a liberação de acetilcolina. Sem liberação o músculo não se contrai, causando a paralisia flácida (Figuras 37).
 - b) Toxina tetânica é produzida pelo *Clostridium tetani*. Conhecida também como tetanospasmina (Figuras 38). O fragmento A bloqueia a liberação de neurotransmissores (ác. aminobutírico e glicina) nas sinapses inibitórias, causando espasmos musculares (Figura 39), ou seja, uma vez ligada ao sistema nervoso central, bloqueia a via de relaxamento muscular, gerando contração muscular incontrolável.

Figura 37- Comparação entre o músculo normal e sob efeito da toxina botulínica



Fonte: MADIGAN, MARTINKO, PARKER (2004).

Figura 38- Comparação entre o músculo normal e sob efeito da toxina tetânica.



Fonte: MADIGAN, MARTINKO, PARKER (2004).

Figura 39- Homem com opistótomo (1) e trismo (2), causados pela toxina tetânica (paralisia espástica).



Fontes: 1. <http://medinfo.ufl.edu/year2/mmid/bms5300/images/a5.jpg>
2. <http://www.mdsaude.com/2009/09/tetano.html>

- Enterotoxinas: essa exotoxina liga-se a receptores e afeta as células gastrintestinais.
A enterotoxina colérica, produzida pelo *Vibrio cholerae*, é composta por duas subunidades: a subunidades B reconhece os receptores celulares GM1 por CT e a subunidade A entra na célula e ativa o adenilato ciclase, que é a enzima que forma o AMPc, desencadeando reações metabólicas, promovendo a liberação de eletrólitos e água (diarréia intensa).
A enterotoxina estafilocócica é um superantígeno (estimula a proliferação de células T e liberação de citocinas, estimula a liberação de mediadores inflamatórios nos mastócitos). Esta toxina aumenta o peristaltismo intestinal e a perda de líquidos, acompanhada de náuseas e vômitos.

PERGUNTAS???



1. Cite três vias utilizadas por patógenos para infectar um indivíduo?
2. Dê exemplos de microrganismos que possuem endotoxinas:
3. Em relação às neurotoxinas citadas, qual o mecanismo de ação de cada uma delas?
4. Descreva como a *Escherichia coli* enteropatogênica causa diarreia:

PRÁTICA 6: IDENTIFICAÇÃO DE COCOS GRAM POSITIVOS (ESTAFILOCOCOS)

1. Introdução

Os estafilococos e estreptococos são bactérias de grande importância para o homem devido à variedade de doenças por elas causadas. São bactérias de fácil diagnóstico laboratorial. A identificação preliminar refere-se à morfologia e arranjo das células, pela coloração de Gram. Porém, testes confirmativos, mais seguros devem ser realizados (Quadro 2). Ambos são cocos Gram positivos, diferenciando-se apenas no agrupamento das suas células. Os estafilococos são

agrupados em "cacho de uva" e os estreptococos, em "cadeia". Os estafilococos são bactérias não exigentes, crescem com facilidade nos meios de cultura simples, formando colônias amarelas ou brancas. Já os estreptococos são de difícil crescimento, crescem melhor no meio ágar-sangue sob microaerofilia, formando colônias pequenas, com hemólise total, parcial ou não hemolítica.

As três espécies do gênero *Staphylococcus* de maior importância médica são: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus saprophyticus*.

Quadro 2- Testes utilizados na identificação de cocos Gram positivos (estafilococos).

Staphylococcus	Catalase	Coagulase	DNase	Meio manitol	Novobiocina
S. aureus	+	+	+	+	Sensível
S. epidermidis	+	-	-	-	Sensível
S. saprophyticus	+	-	-	-	Resistente

Fonte: NASCIMENTO, J.S. (2010)

2. Material

Culturas de estafilococos e estreptococos, lâmina escavada, alça de platina, bateria de corante para o Gram, plasma, água oxigenada, água esterilizada em tubos, bico de Bunsen.

3. Teste da catalase

Bactérias pertencentes ao gênero *Staphylococcus* produzem a enzima catalase, enquanto as pertencentes ao gênero *Streptococcus* não produzem, o que torna possível diferenciá-los.

a) Preparar uma suspensão do crescimento bacteriano em água destilada, na superfície de uma lâmina;

b) Colocar sobre a suspensão de bactérias 2-3 gotas de água oxigenada a 3%;

c) Observar se houve formação de bolhas:

(+) Houve formação de bolhas: a bactéria produziu a enzima catalase que desdobrou o H_2O_2 em $H_2O + \frac{1}{2} O_2$ (estafilococos).

(-) Não houve formação de bolhas: a bactéria não produziu a enzima catalase (estreptococos).

4. Teste da coagulase, DNase e meio de Chapman

O teste da coagulase, DNase e o uso do meio seletivo e indicador Chapman apresentam o mesmo resultado, ou seja, em qualquer um destes testes separa-se *Staphylococcus aureus* das demais espécies.

a) Teste da coagulase

A coagulase é uma enzima, capaz de transformar o fibrinogênio do plasma em fibrina. Este teste é utilizado na identificação do *Staphylococcus aureus*, considerando que 97% dessas amostras são coagulase positivas.

a) Fazer uma suspensão da bactéria com 2-3 gotas de água destilada estéril na superfície da lâmina;

b) Preparar um esfregaço espesso em lamina escavada a partir das culturas;

- c) Adicionar 2-3 gotas de plasma e homogeneizar suavemente, movimentando a lâmina;
- d) Observar se houve formação de grumos:
 - (+) Formação de grumos, indica que bactéria produziu a coagulase (*S. aureus*).
 - (-) Não formação de grumos, indica que a bactéria não produziu a enzima coagulase (demais espécies do gênero *Staphylococcus*).

b) Teste da DNase

No teste da DNase ocorre uma despolimerização (quebra do DNA em subunidades compostas de nucleotídeos) do ácido desoxirribonucléico contido no meio de cultura pela enzima desoxirribonuclease. Este teste serve para diferenciar *S. aureus* (produz DNase) das demais espécies.

- a) Semear a bactéria na superfície do agar DNase, de modo que o inóculo possa cobrir uma área de 1-1,5cm de diâmetro;
- b) Incubar a 36°C por 18-24h;
- c) Cobrir o crescimento com uma solução de ácido clorídrico 1N;
- d) Observar a formação de uma área clara em torno do crescimento indica a presença do *S. aureus*, enquanto que nas demais espécies observam-se uma turvação uniforme em toda a superfície do meio:

c) Semeadura em meio de Chapman

O meio de Chapman (ágar manitol) é seletivo para estafilococos devido a concentração alta de NaCl (7,5%) e indicador para a espécie que fermenta o manitol presente no meio de cultura. Ao utilizar o manitol o meio muda de cor, originalmente vermelho para amarelo, pela presença do vermelho de fenol que é um indicador de pH.

- a) Semear a bactéria em meio ágar manitol
- b) Incubar a 36°C por 24-48h;
- c) Observar a cor do meio de cultura:
 - (+) Meio amarelo (indica degradação do manitol com formação de ácidos): *S. aureus*
 - (-) Não muda a cor: Outros estafilococos

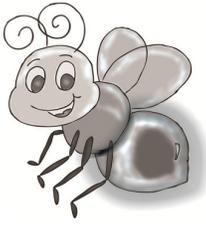
5. Teste da novobiocina

O teste da novobiocina é utilizado na identificação da espécie *S. saprophyticus* que é resistente a novobiocina. As demais espécies de estafilococos são sensíveis.

Procedimento:

- a) Umedecer um "swab" com suspensão de estafilococos e espalhar em meio ágar Mueller-Hinton;
- b) Colocar um disco de novobiocina sobre o meio com uma pinça;
- c) Incubar a placa de Petri a 37°C durante 24 horas;
- d) Observar se houve formação de halo de inibição do crescimento:
 - (S) houve inibição do crescimento da bactéria.
 - (R) não houve inibição do crescimento da bactéria.

FIQUE LIGADO!!!



- A identificação de uma bactéria é muito importante, tanto para o controle das doenças, como para os estudos epidemiológicos das mesmas.
- Nem sempre um único teste bioquímico é suficiente para se ter certeza sobre determinada espécie microbiana.

UNIDADE 11

CARACTERÍSTICAS GERAIS DE FUNGOS

1. ASPECTOS GERAIS

Os fungos são microrganismos ubíquos, eucariotos, aclorofilados, aeróbios, heterotróficos, unicelulares e multicelulares. Mais de 250 mil espécies de fungos já são conhecidas. Apesar das dimensões macroscópicas de alguns fungos, a exemplo dos cogumelos, são considerados microrganismos, pois formam um falso tecido gigante, mas a unidade celular é microscópica.

A célula eucariótica apresenta parede celular constituída por quitina (quitosana) (Zygomycota) quitina-glucana (Ascomycota e Basidiomycota filamentosos e Mitospóricos), glucana-manana (Ascomycota e Mitospóricos leveduriformes), quitina-manana (leveduras Basidiomicetos). Chytridiomycota: celulose. A membrana celular é rica em ergosterol e tem o glicogênio como substância de reserva.

Quanto ao modo de vida, a maioria é sapróbio sobre material em decomposição, outros são parasitos de plantas e animais (aproximadamente 150 sp. são patogênicas para humanos e animais). A simbiose também é verificada como coevolução entre fungos e plantas (micorrizas) e algas (líquenes).

Com o metabolismo aeróbio crescem com facilidade sobre meios à base de batata ou carboidratos. As leveduras são aeróbias facultativas e promovem a fermentação, sendo de larga aplicação na indústria alimentícia.

Os fungos são imóveis, exceto algumas estruturas reprodutivas (esporos do filo Chytridiomycota) flageladas. Os esporos são estruturas reprodutivas geradas por meiose (sexual) e mitose (assexual).

2. IMPORTÂNCIA DOS FUNGOS

Por serem decompositores, a maioria está envolvida no processo de reciclagem de nutrientes, úteis para os demais organismos, a partir de detritos orgânicos. É um dos microrganismos mais importantes no processo de compostagem.

Na alimentação são fontes de proteína, vitaminas, aminoácidos (cogumelos comestíveis: champignon, shiitake, shimeji, *Morchella*, *Lactarius* etc.). Utilizados na indústria como fermentos na produção de pão, vinho, álcool (*Saccharomyces*), shoio (*Aspergillus*), queijos (*Penicillium*).

O gênero *Giberella* produz o hormônio de crescimento ácido giberélico, que promove a proliferação de tecidos jovens nas plantas. Outra aplicação benéfica são os antibióticos (penicilina, cefalosporina etc.) produzidos por fungos e que são utilizados no tratamento de doenças.

Poucos fungos são capazes de causar doenças, conhecidas como micoses. Os fungos são menos frequentes na microbiota humana e animal. Portanto, as doenças de natureza fúngica são menos comuns, o que não ocorre com as plantas. Alguns cogumelos também são tóxicos e outros fungos também podem produzir micotoxinas em alimentos, causando intoxicação alimentar. Algumas espécies de fungos são de grande utilização no controle biológico, conhecidos como fungos entomopatogênicos.

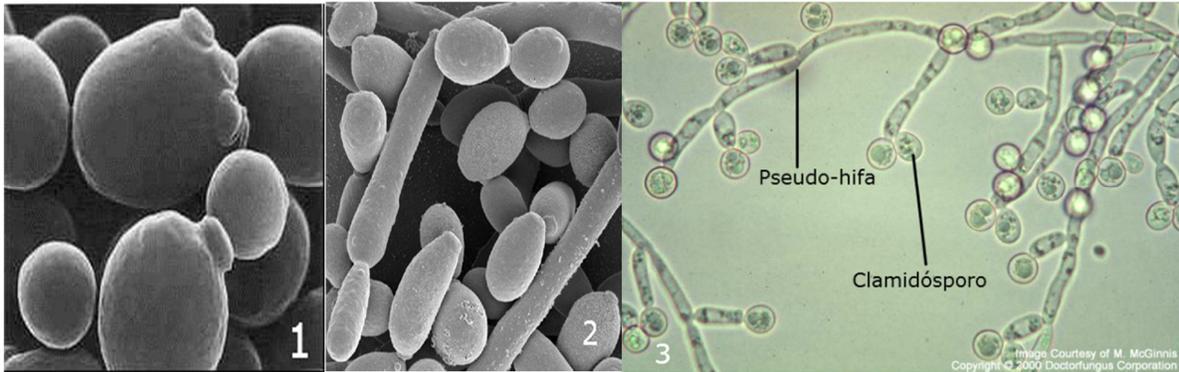
Devido a sua característica heterotrófica, são frequentes os casos de deterioração de alimentos, equipamentos, roupas e outros materiais, especialmente contendo material orgânico e umidade à temperatura ambiente.

As espécies macroscópicas (cogumelos) albergam outras espécies, sendo um fator importante na cadeia alimentar.

3. MORFOLOGIA

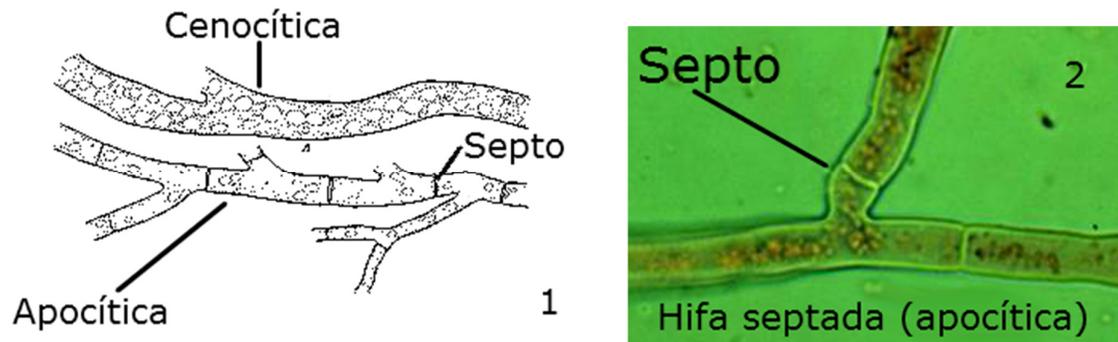
- a) Fungo leveduriforme: unicelular, com células esféricas, blastósporos, pseudo-hifas e clamidósporos (Figura 40).
- b) Fungo filamentososo: multicelular, constituído por estrutura vegetativa (hifas). O conjunto de hifas forma o micélio. O micélio cresce de forma radial e horizontal, absorvendo nutrientes a partir do contato e ação enzimática sobre o substrato. As hifas têm crescimento indefinido enquanto houver nutrientes disponíveis. As hifas são cilíndricas, incolores (hialinas) ou levemente escuras (demácias). Os fungos filamentosos são divididos em cenocíticos - hifa não septada - e apocíticos - hifa septada (Figura 41).

Figura 40- Leveduras: 1. *Saccharomyces* em fase de gemulação (brotamento) com blastósporos (células filhas); 2. *Candida* sp. com pseudo-hifas; 3. *Candida albicans*: pseudo-hifas e clamidósporos.



Fontes: 1.; <http://florabrazilienses.blogspot.com.br/2009/05/o-reino-fungi.html>; 2. http://www.fiocruz.br/ccs/media/Candida_albicans2.gif; 3. Fonte: <http://www.christinas-home-remedies.com/image-files/candida-albicans-picture1.jpg>

Figura 41- Fungos filamentosos: 1. hifas cenocítica e 2. Apocítica.

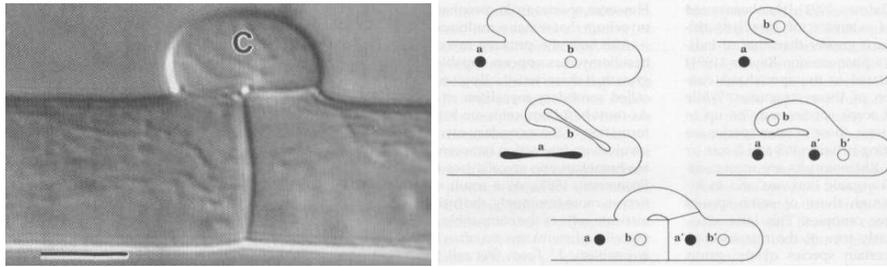


Fontes: 1. http://www.biologia.edu.ar/micologia/03_micologia.htm; 2. <http://florabrazilienses.blogspot.com.br/2009/05/o-reino-fungi.html>

Alguns fungos modificam o micélio e estes, modificados, desempenham funções específicas, a exemplo dos rizóides: em *Rhizopus* e *Absidia*, com a função de se fixar no substrato; grampo de conexão (Figura 42): em Basidiomycetos, permite a passagem de núcleos

para o septo seguinte; clamidósporo: célula de resistência rica em glicogênio; escleródio: envelhecimento de hifas formando uma estrutura de resistência de consistência dura.

Figura 42- Grampo de conexão (material nuclear a e b compatíveis).



Fonte: ALEXOPOULOS, MIMS, BLACKWELL (1996).

A morfologia da colônia é algodonosa (cotonosa), seca, forma de pó, coloridas para os fungos filamentosos e úmida ou leitosa para os fungos leveduriformes (Figura 43).

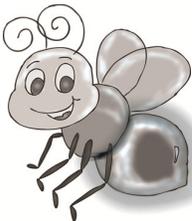
Figura 43- Colônias de fungos filamentosos (1) e de levedura (2).



Fonte: 1. © J.S. NASCIMENTO (2009);

2. <http://media-2.web.britannica.com/eb-media/11/123611-004-4B9499BB.jpg>

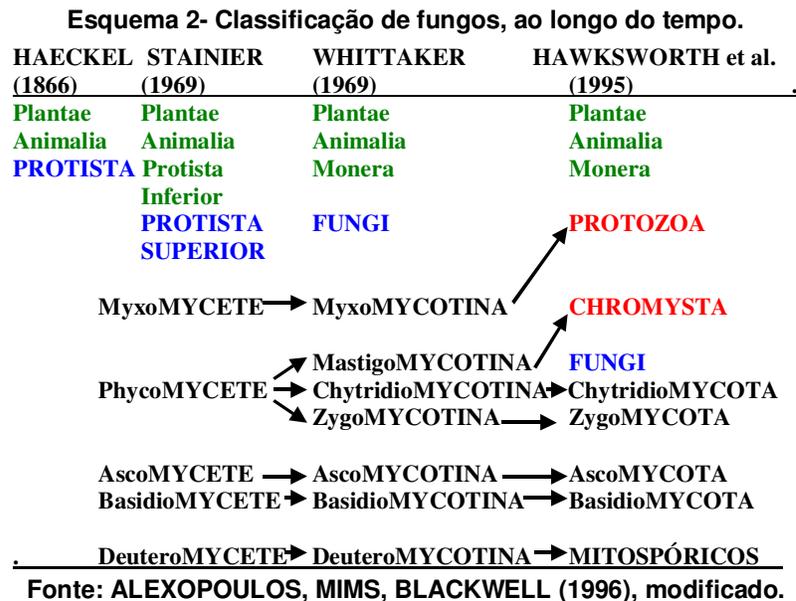
FIQUE LIGADO!!!



- **Dimorfismo:** capacidade que alguns fungos filamentosos, presentes no ambiente, ao infectarem humanos ou animais transforma-se em leveduras. Sendo esta uma condição reversível. O principal fator que interfere nessa mudança morfológica é a temperatura.
- Os fungos cenocíticos também podem apresentar septos, ocasionalmente, ao longo da hifa.
- As leveduras também são capazes de formar pseudohifas, assemelhando-se aos fungos filamentosos.
- Os fungos não são vegetais, pertencem ao reino Fungi.

4.CLASSIFICAÇÃO DE FUNGOS

No organograma abaixo está resumido o estudo da sistemática de fungos. Nos primórdios da ciência, Linnaeus classificou os fungos como plantas. Posteriormente, foram criados reinos que melhor representasse os fungos. Pela última classificação adotada, os fungos pertencem ao reino Fungi e algumas subdivisões passaram a pertencer a outros reinos, conforme mostra o esquema 2.



4.1.REINO PROTISTA OU PROTOZOA

Estes são organismos gelatinosos, desprovidos de parede celular na fase plasmodial, fase móvel e amorfa (mixameba), nutrem-se por fagocitose e produzem o esporo assexual que é uma mixoameba biflagelada, denominada de zoosporangiósporo (Figura 44).

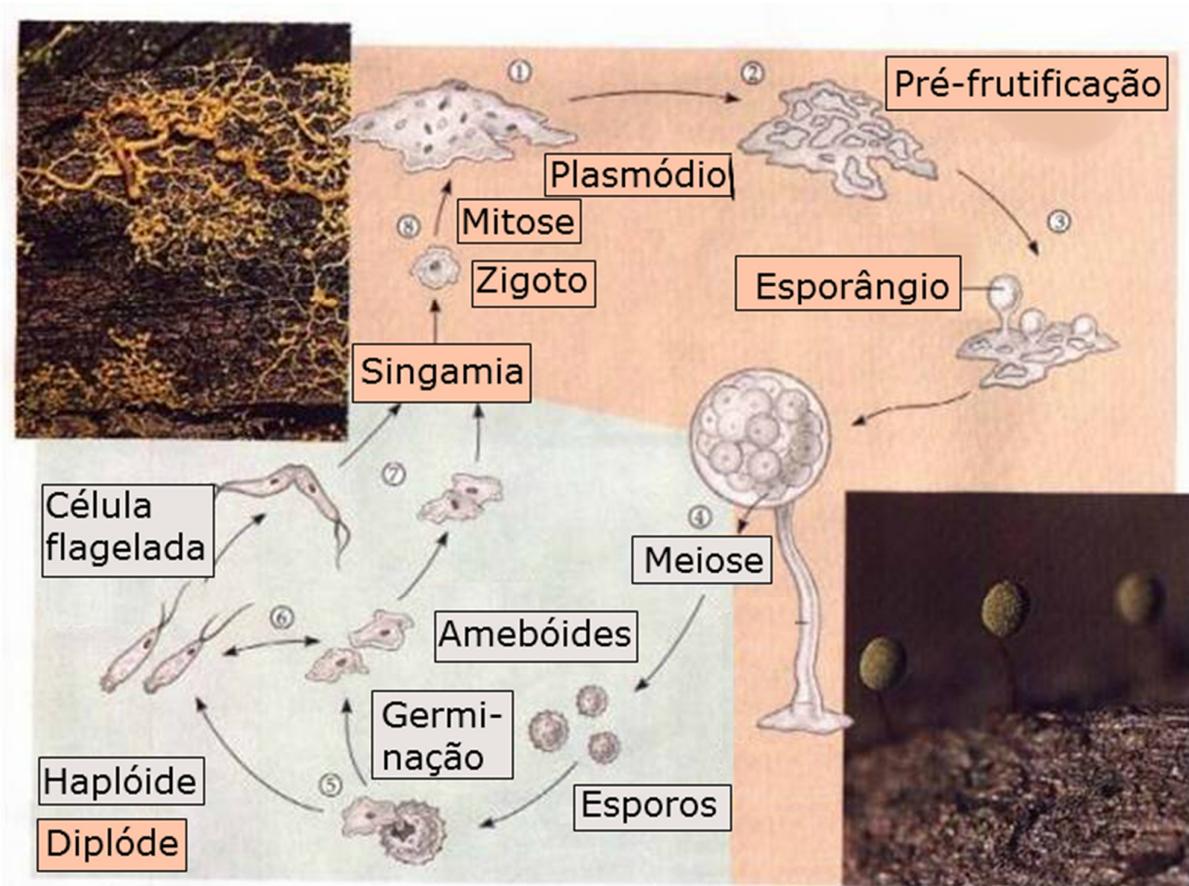
Os fungos do reino protista são muito fáceis de serem encontrados no ambiente, especialmente em bosques, com elevado teor de umidade, após as chuvas. As estruturas reprodutivas formam capilícios, muito variáveis em tamanhos, de 0,5 a poucos centímetros. Este grupo não pertence mais ao Reino Fungi.

4.2.REINO CHROMYSTA OU STRAMENOPILA

O reino Chromysta são organismos aquáticos, marinhos ou de água doce e terrestre. São saprófitos, parasitos facultativos de peixes e crustáceos (Figura 45) ou biotróficos de plantas. Possui hifa cenocítica, na fase assexual produz os esporos móveis biflagelados (zoosporangiósporos) e a fase sexual produz o esporo oósporo (Figura 46).

Outro grupo de fungos que deixou de pertencer ao Reino Fungi. No entanto, é um grupo de fungos que apresenta um grande interesse econômico, em função das doenças ocasionadas em plantas, tais como o míldio, a ferrugem branca, a podridão radicular etc.

Figura 44- Ciclo de vida de um Myxomycota.



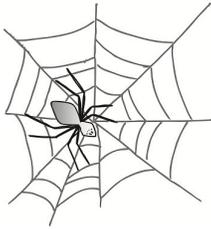
Fonte: HERRERA, ULLOA (1998).

Figura 45- Peixe com infecção (1) por *Saprolegnia parasítica* (2), em aquário.



Fonte: http://botit.botany.wisc.edu/toms_fungi/saprolegnia.html

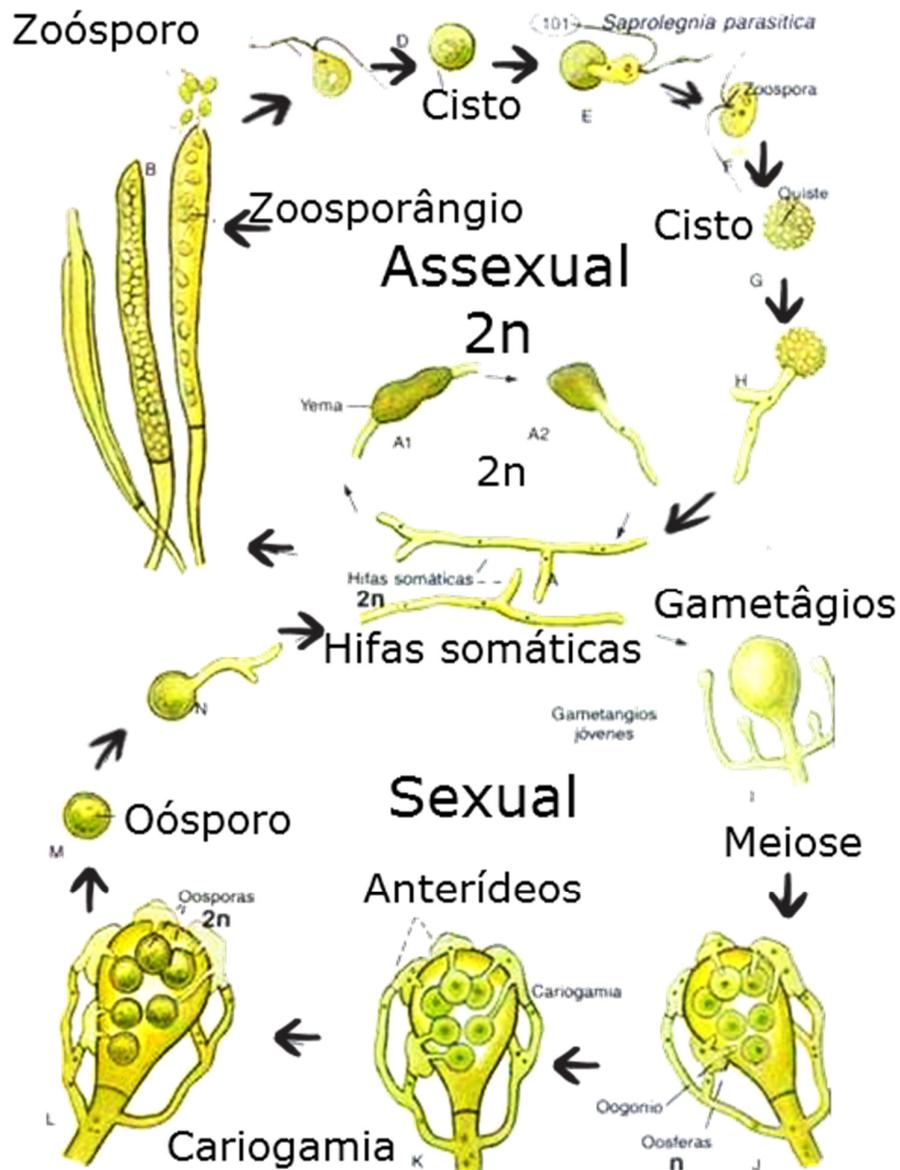
TÁ NA WEB!!!



Leia mais sobre as doenças fúngicas, em plantas, causadas pela Classe Oomycete (Reino Chromista):

http://www.grupocultivar.com.br/arquivos/hf29_disseminador.pdf

Figura 46- Ciclo de vida de um Chromista (*Saprolegnia parasitica*).



Fonte: HERRERA, ULLOA (1998).

4.3. REINO FUNGI

4.3.1. Filo Chytridiomycota

Apresenta micélio filamentosso cenocítico; parede celular com quitina, glucana e celulose; esporo assexual formado dentro de zoosporângios (uniflagelado); esporo sexual oósporo (Figura 47). Fungo comum em ambientes aquáticos ou solos úmidos, sendo alguns parasitos de algas, hiperparasitos (fungos parasitos de outros fungos), e plantas (endobióticos). Ex. *Chytridium*, *Olpidium*, *Allomyces*.

4.3.2. Filo Zygomycota

Fungos saprófitos (decompositores), endomicorrizas, causadores de deterioração de alimentos, fitopatógenos e parasitos de animais e humanos.

Apresenta o micélio cenocítico; esporo sexual zigósporo (esporo diplóide) e assexual esporangiósporo (esporos haplóides contidos em um esporângio) (Figura 48). Exemplos: *Rhizopus*, *Mucor*, *Absidia*, *Pilobolus*, *Cunninghamella*, *Entomophthora*, endomicorrizas.

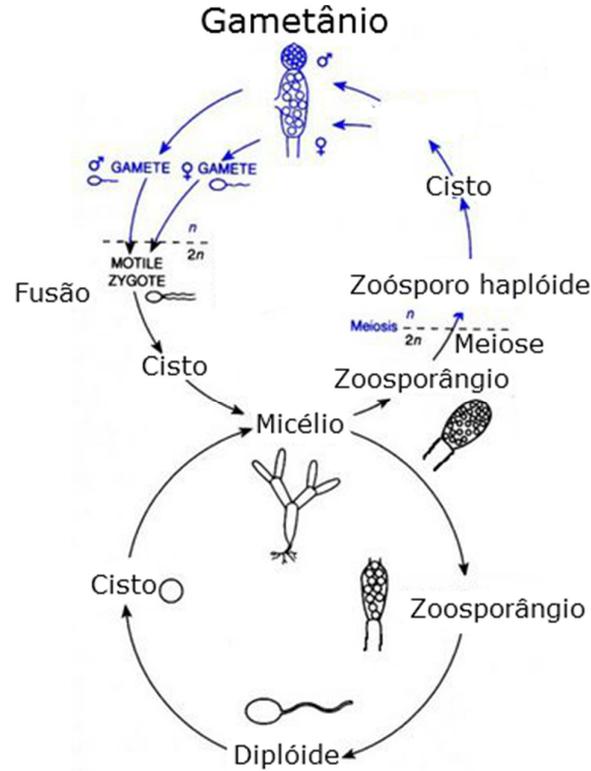
FIQUE DE OLHO!!!



Você sabia que...

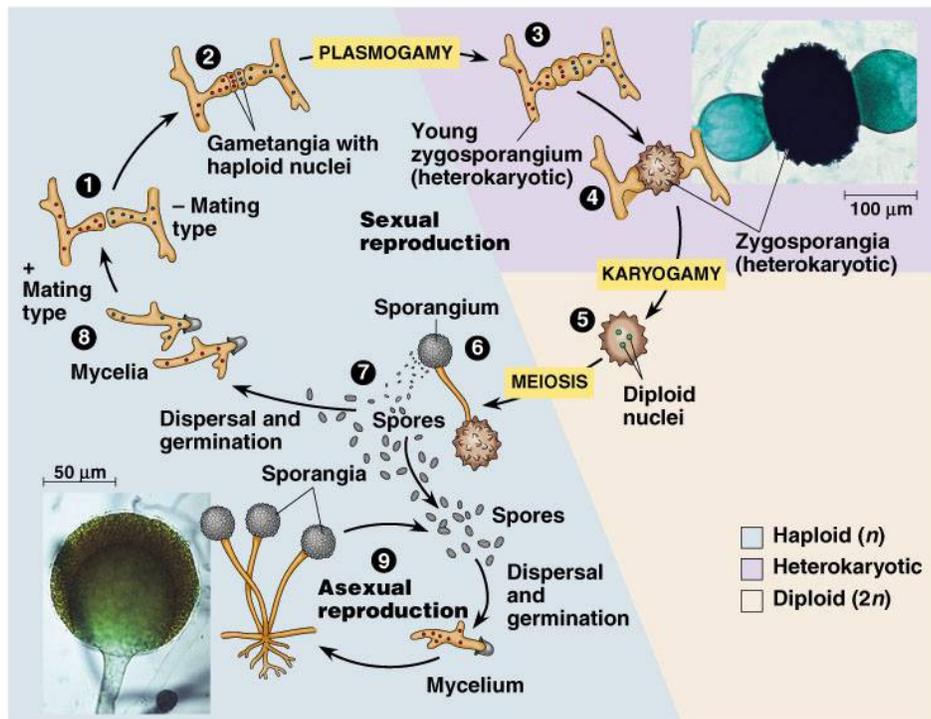
- O micélio fúngico do Oomycota geralmente é dicariótico?
- O esporo sexual (zigósporo) é diploide e não haploide, como são os demais fungos?

Figura 47- Ciclo de vida de um Chytridiomycota.



Fonte: <http://microbewiki.kenyon.edu/images/thumb/1/13/Carl34ChytridCycle3.jpg/300px-Carl34ChytridCycle3.jpg>

Figura 48- Ciclo de vida de um Zygomycota.



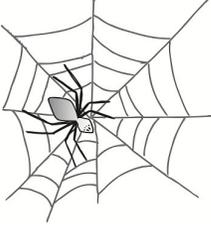
Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Fonte: <http://www.biology.lsu.edu/heydrjay/1002/Chapter24/lifecycles/Zygomycota.jpg>

4.3.3 Filo Ascomycota

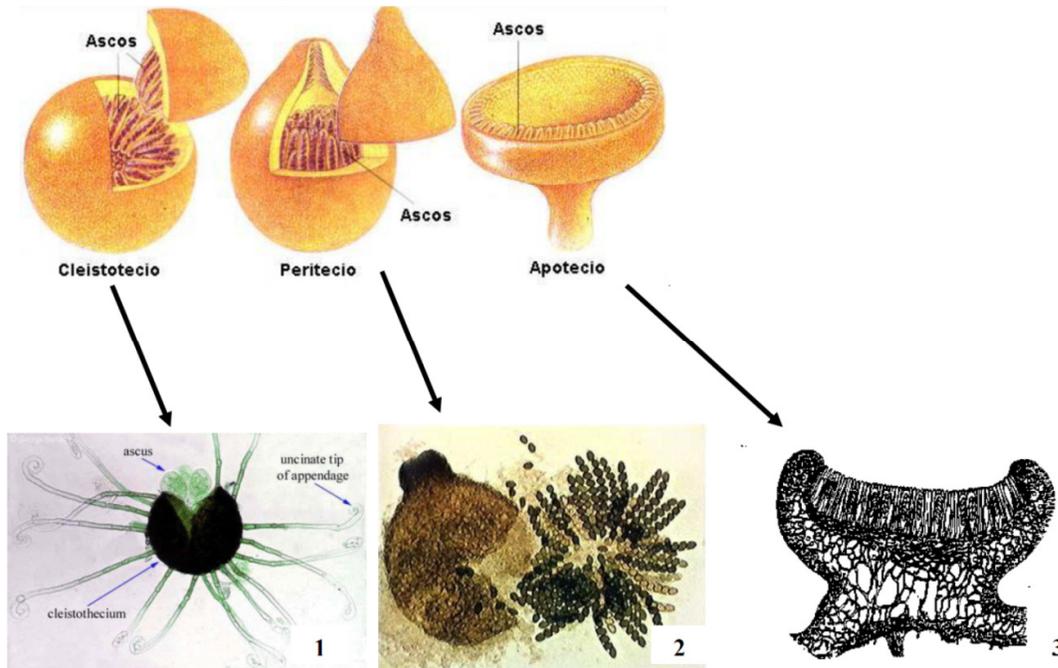
Os ascomycota caracterizam-se por apresentar hifas septadas e formar ascósporos na reprodução sexuada. Os ascósporos são nus ou dentro de ascostroma (corpo de frutificação) contendo ascos (Figura 49). Os ascostromas mais conhecidos são: estroma, peritécio, cleistotécio e apotécio. Na reprodução assexuada formam conídios, conforme se observa no ciclo de vida (Figura 50). Já as leveduras incluídas entre os Ascomycota formam blastósporos ou gemulação. Ex. *Eurotium*, *Chaetomium*, *Peziza*, *Saccharomyces*, *Tuber*, *Claviceps*, *Arthroderma*.

TÁ NA WEB!!!



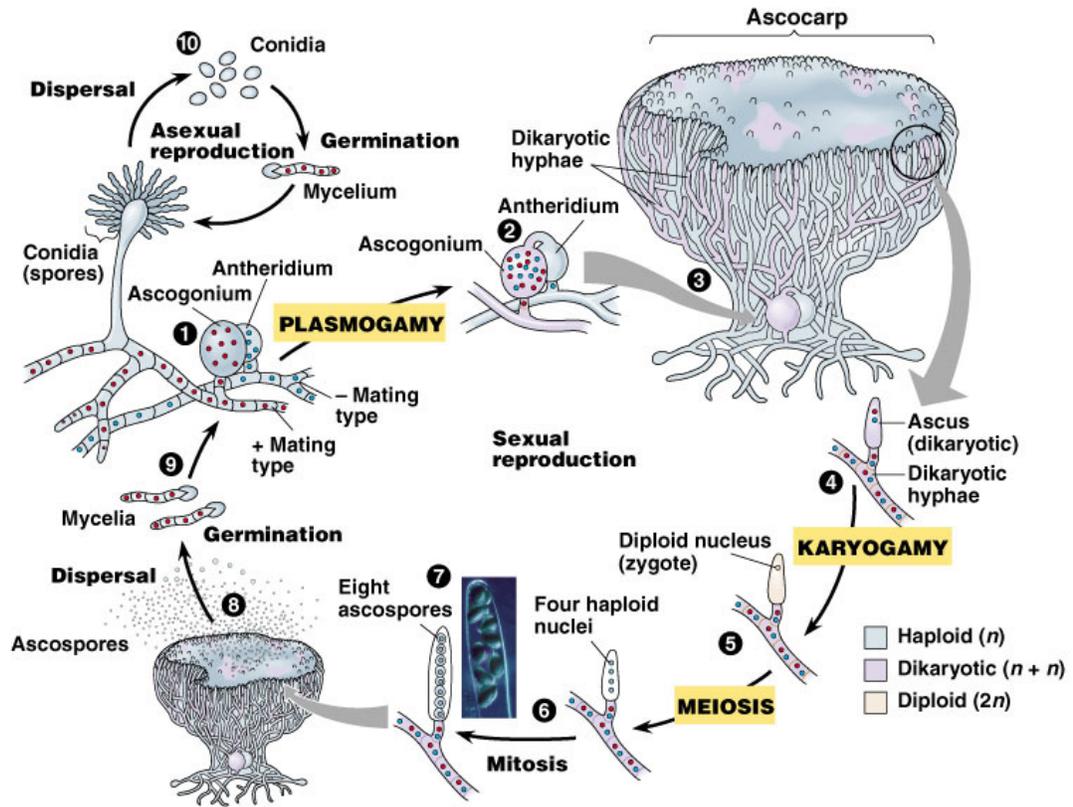
Leia mais sobre a importância e classificação de fungos:
<http://goo.gl/ZVf4J> <http://goo.gl/MYs9W>
<http://goo.gl/PyhSM> <http://goo.gl/WHbZz>

Figura 49- Tipos de ascosmas ou ascostromas.



Fonte: 1. <http://www.uoguelph.ca/~gbarron/MISCELLANEOUS/uncinu2.jpg>;
2. <http://www.biology.iastate.edu/Courses/211L/Sordaria/perithecium%20releases%20asci.jpg>;
3. <http://io.uwinnipeg.ca/~simmons/images/cupfundr.gif>

Figura 50- Ciclo de vida de um Ascomycota.



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Fonte: <http://www.biology.lsu.edu/heydrjay/1002/Chapter24/lifecycles/Ascomycota.jpg>

4.3.4 Filo Basidiomycota

Os Basidiomycota apresentam hifas septadas, formam basidiósporos na reprodução sexuada e conídios na reprodução assexuada, conforme se observa no ciclo de vida (Figura 51). Os basidiósporos são formados sobre basídias (Figura 52), com ou sem formação de basidioma. Neste filo, estão incluídas algumas leveduras. São fungos sapróbios, decompositores, ectomicorrízico, causam deterioração de alimentos, são fitopatógenos e parasitos de animais e humanos. Ex. cogumelos (comestíveis, medicinais e venenosos), ferrugens (parasitos obrigatórios de plantas), *Cryptococcus*, *Trichosporum*.

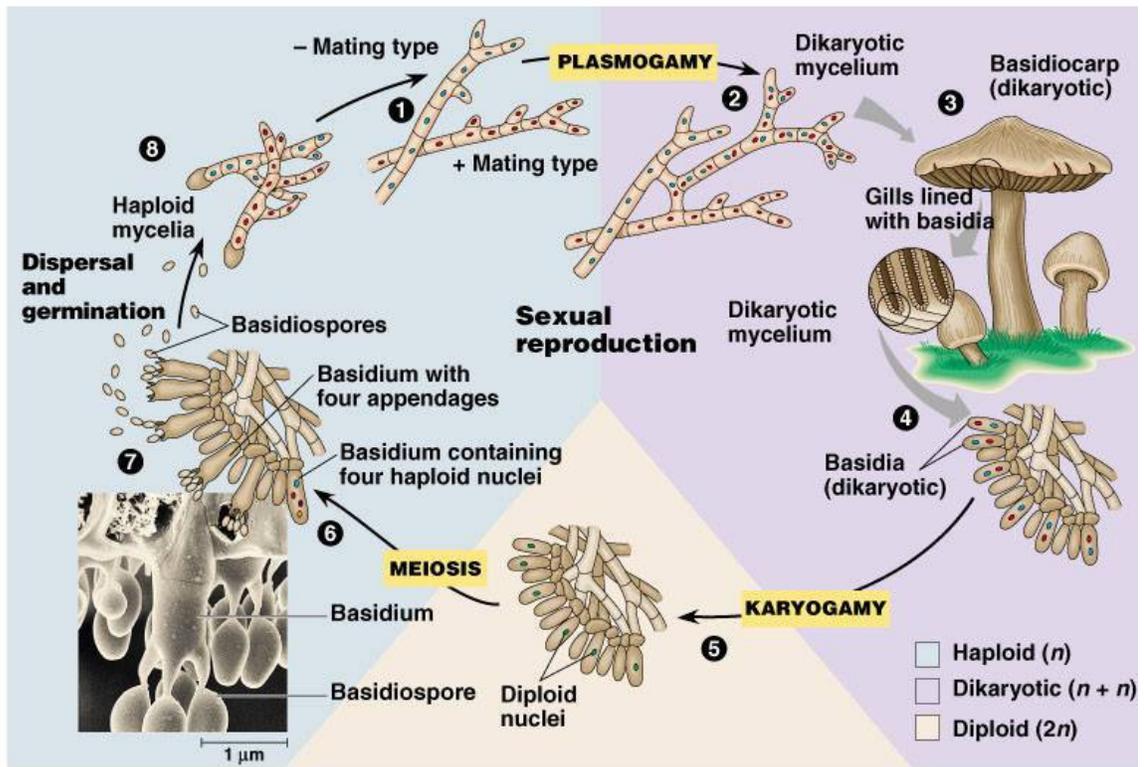
4.3.5 Classe-forma Mitospórico (Deuteromycota)

Os fungos mitospóricos não se reproduzem de forma sexual, sendo os esporos apenas assexuados, quando formados. Atribui-se esta característica por terem perdido geneticamente a capacidade reprodutiva ou por se desconhecer esta fase.

São fungos filamentosos, sapróbios, parasitos facultativos de plantas, causador de deterioração de alimentos (produtor de micotoxinas) e parasitos de animais e humanos. O micélio é septado. Entre estes, um grupo pequeno não formam esporos, reproduzem-se apenas por fragmentação da estrutura reprodutiva (Ex. *Rhizoctonia*). Muitos deles, já se sabem qual é a fase teleomórfica, porém permanece no grupo mitospórico devido à fase assexuada, a exemplo de *Penicillium* e *Aspergillus*, que são teleomórficos de Ascomycota.

Exemplos de fungos mitospóricos: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Candida*, *Sporothrix*, *Fusarium*, *Microsporum*, *Trichophyton*, *Histoplasma*.

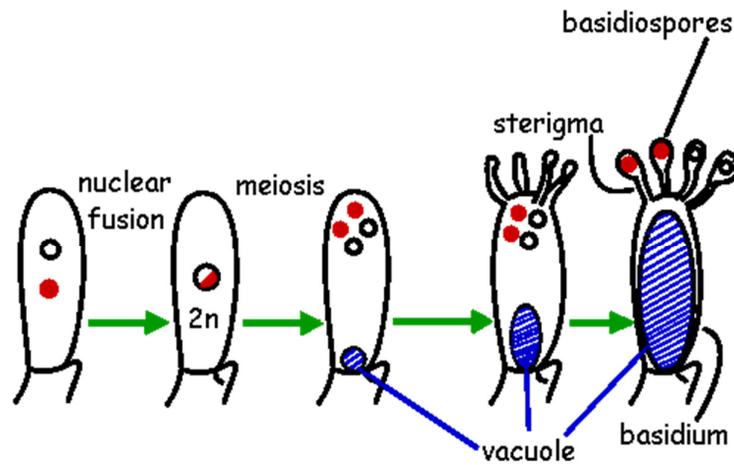
Figura 51- Ciclo de vida de Basidiomycota.



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Fonte: <http://www.biology.lsu.edu/heydrjay/1002/Chapter24/lifecycles/Basidiomycota.jpg>

Figura 52- Formação dos basidiósporos sobre o basídio.



Fonte: <http://www.biology.lsu.edu/heydrjay/1002/Chapter24/lifecycles/Basidiomycota.jpg>

UNIDADE 12

FUNGOS CAUSADORES DE MICOSES

1. INTRODUÇÃO

Os fungos patogênicos para humanos e animais restringem-se a, aproximadamente, 150 espécies. Na microbiota humana e animal, algumas leveduras são comensais, destacando-se os gêneros *Candida* e *Malassezia*, nas mucosas e couro cabeludo, respectivamente. Os fungos filamentosos participam apenas da microbiota transitória, devido à elevada quantidade de esporos anemófilos (transportados pelo ar) que se depositam na pele e mucosas ou são inalados.

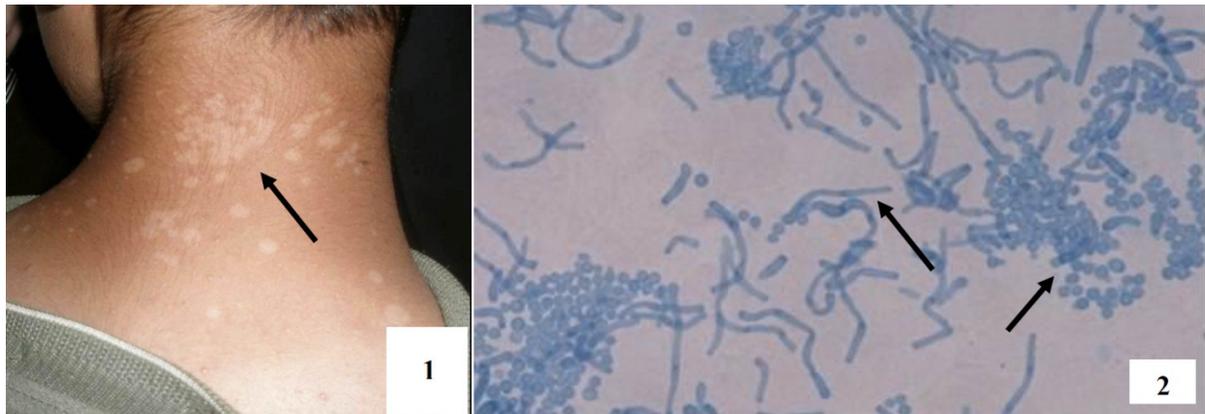
As micoses são causadas por fungos saprófitos facultativos. São adquiridas de várias maneiras, tanto pelo contato direto com áreas e indivíduos infectados, pela inalação, por lesões na pele e tecido, como também pela condição patogênica da microbiota endógena.

As micoses são classificadas conforme o tecido infectado ou o grupo de fungos:

2. MICOSES SUPERFICIAIS

Grupo de fungos que se desenvolve na pele e pelos. Destaca-se a micose pitíriase versicolor ou pano branco (Figura 53), causada pelo fungo *Malassezia*, sendo a mais prevalente. Levedura produtora de lípases. Outras micoses superficiais adquiridas de solos e água contaminados são: pedra negra e pedra branca nos pelos e a tinea nigra na palma das mãos e sola dos pés.

Figura 53- Pitíriase versicolor (pano branco), em humanos, causada pela *Malassezia furfur*.



Fontes: 1. <http://www.globale-dermatologie.com/as-infeccoes-de-pele-por-fungos-e-leveduras-micoseportugues.html>; 2. <http://www.telmeds.org/atlas/micologia/levaduras/malassezia-furfur/>

3. MICOSES CUTÂNEAS OU DERMATOMICOSSES

Grupo de fungos queratinofílicos, formado por três gêneros, que se desenvolvem na pele (epidermofitíases), pelos (tíneas tonsurante, supurativa e favosa) e unhas (onicomicose dermatofítica) (Figura 54). São fungos restritos devido à produção da enzima queratinase, produzidas por *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton* (Figura 55) São altamente contagiosos entre indivíduos e os dois primeiros gêneros são zoonoses (transmissível entre animais e homem).

Os gêneros são diferenciados pela formação de conídios. *Microsporium* forma mais macroconídeos, *Trichophyton* formam mais microconídios e *Epidermophyton* forma apenas macroconídios e restringem-se apenas as micoses em humanos. As espécies são encontradas no solo (geofílicos), em animais (zoofílicos) e no homem (antropofílicos).

Figura 54- Dermatofitoses: 1. Epidermofitíase; 2. Tínea; 3. Onicomicose

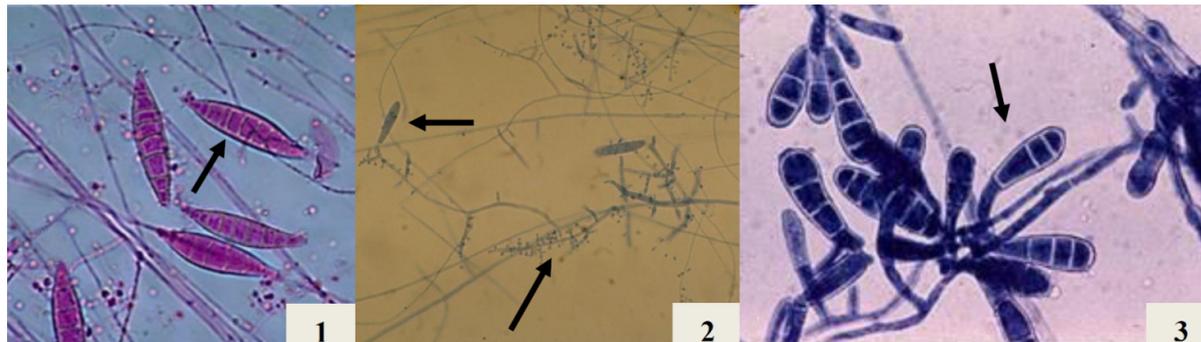


Fontes: 1. <http://www.aafp.org/afp/2003/0101/p101.html>

2. <http://www.healthype.com/tinea-capitis-scalp-ringworm-hair-fungal-infection-pictures.html>

3. <http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/onicomioses/>

Figura 55- Dermatofitófitos (Gêneros): 1. *Microsporium*; 2. *Trichophyton*; 3. *Epidermophyton*



Fontes: 1. <http://www.vetsilvestre.com.br/artigos/index.php?&art=fungos%20de%20ferrets.htm>;

2. <http://microbiologiaeepidemiologia.blogspot.com.br/2012/06/trichophyton-rubrum-trichophyton.html>;

3. http://botit.botany.wisc.edu/toms_fungi/feb98.html

4. MICOSES SUBCUTÂNEAS

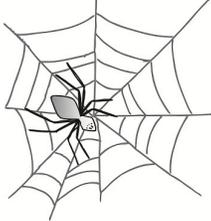
As micoses subcutâneas são causadas por diversas espécies de fungos existentes em solos e vegetais contaminados, na condição de sapróbios. O fungo penetra o hospedeiro através de uma lesão, arranhão, perfuração etc.

As micoses mais comuns são: esporotricose (Figura 56), cromomicose (Figura 57), mucormicose, zigomicose, doença de Jorge Lobo, entomofotoromicose, micetomas. Observe, na Figura 56 (a) as lesões nodulares linfáticas. No exame direto (b), a partir do material coletado, raramente observa-se estrutura fúngica (corpo asteroide), mas na cultura, são facilmente observados os conídios em forma de rosetas (c).

Dimorfismo: alguns fungos filamentosos ao infectarem humanos modificam a morfologia e tornam-se leveduras, em função da diferença de temperatura entre o ambiente (forma infectante)

e o hospedeiro (forma parasitária) sendo uma mudança reversível. Ocorre dimorfismo apenas em algumas espécies subcutâneas e sistêmicas.

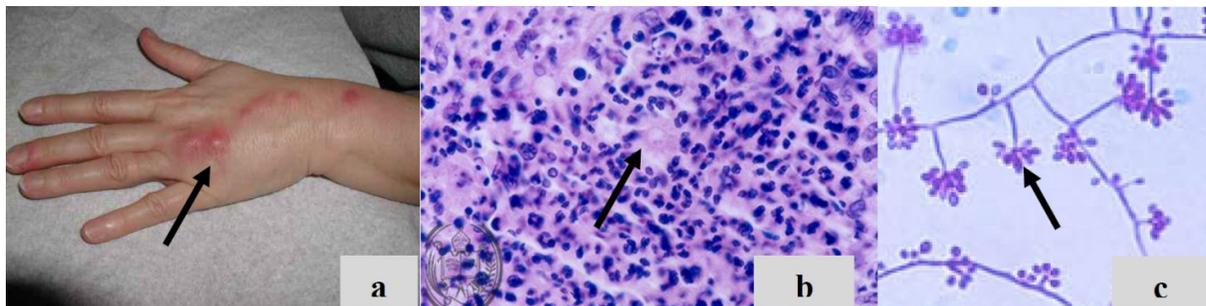
TÁ NA WEB!!!



Leia mais sobre a importância e classificação de fungos:

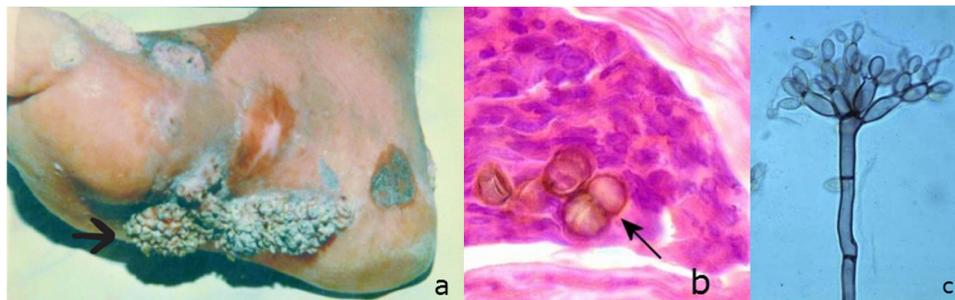
<http://www.portalbrasil.net/downloads/micoses.pdf>

Figura 56- Micoose subcutânea: a. Esporotricose; b. Direto; c. Cultura (*Sporothrix schenckii*);



Fontes: a. <http://diggingri.wordpress.com/2010/02/08/weird-garden-diseases-part-i/>
 b. <http://www.saber.ula.ve/tropical/contenido/capitulo6/capitulo42/figuras/42-0002-es.html>
 c. http://www.dac.uem.br/micologia/micoses_subcutaneas.php

Figura 57- Micoose subcutânea: a. Cromoblastomicose; b. Corpos fumagóides; c. Cultura (*Fonsecaea pedrosoi*).



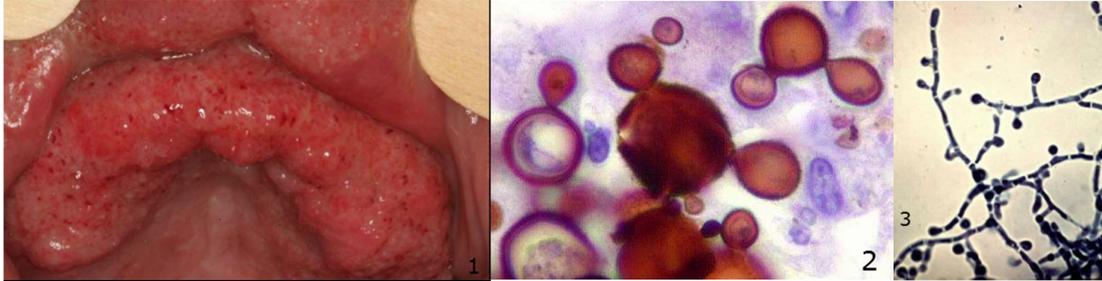
Fontes: a. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0375-07602005000300013&script=sci_arttext
 b. <http://anatpat.unicamp.br/lampele5.html> c. <http://www.mold.ph/fonsecaea.htm>

5. MICOSES SISTÊMICAS

As micoses sistêmicas são adquiridas através da inalação de estruturas fúngicas em áreas contaminadas, a partir de reservatórios ambientais. As micoses sistêmicas mais conhecidas são causadas por fungos dimórficos. São elas: paracoccidiodomicose (Figura 58), coccidiodomicose, histoplasmose, blastomicose e criptococose. São micoses fatais, diferentemente das anteriores, se não devidamente tratadas.

O fungo após ser inalado, desenvolve no pulmão (infecção respiratória pulmonar) e depois se dissemina para outros órgãos e mucosas. Ocorre destruição tecidual devido à ação enzimática.

Figura 58- Paracoccidioidomicose na cavidade oral (1); Direto: levedura (2); Cultura *P. brasiliensis* (3).

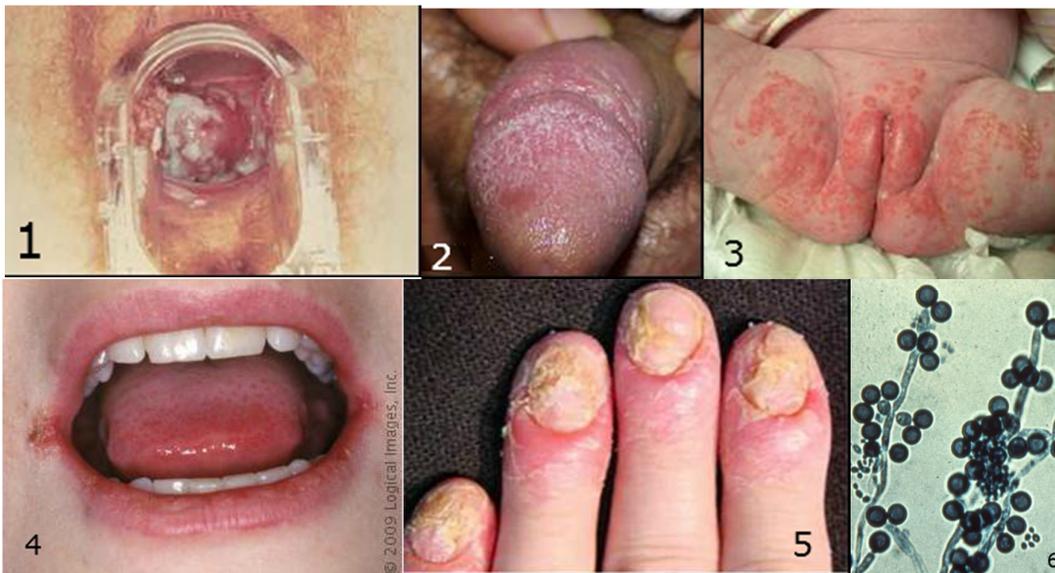


Fontes: 1. <http://www.ricardosgomez.com/paracoccidioidomicose>
2. <http://anatpat.unicamp.br/biinflparacoco1.html>
3. http://www.dac.uem.br/micologia/micoses_sistemicas.php

6. MICOSES SISTÊMICAS OPORTUNISTAS

Micoses causadas por fungos sistêmicos, porém a doença só evolui em decorrência da diminuição das defesas imunológicas do hospedeiro, em decorrência do uso de antibióticos e de alguma outra patologia. Ex.: candidíase (Figura 59), criptococose, aspergilose, zigomicose, pneumocistose etc.

Figura 59- Tipos de candidíases: 1. Vulvovaginite; 2. Balanopostite; 3. Assaduras; 4. Boqueira; 5. Unhas candidosa; 6. Cultura (pseudo-hifas, blastoconídios e clamidósporos).



Fontes: <http://www.ginorte.com.br/textos/candidiase.htm>
2 e 3. <http://dermatlas.med.jhmi.edu/derm/indexDisplay.cfm?ImageID=-763630613>
4. <http://www.odontoblogia.com.br/estomatologia-2/queilite-angular-boqueira>
5. <http://saude.culturamix.com/higiene/infeccao-de-unha>
6. http://www.microbeworld.org/index.php?option=com_jlibrary&view=article&id=1097

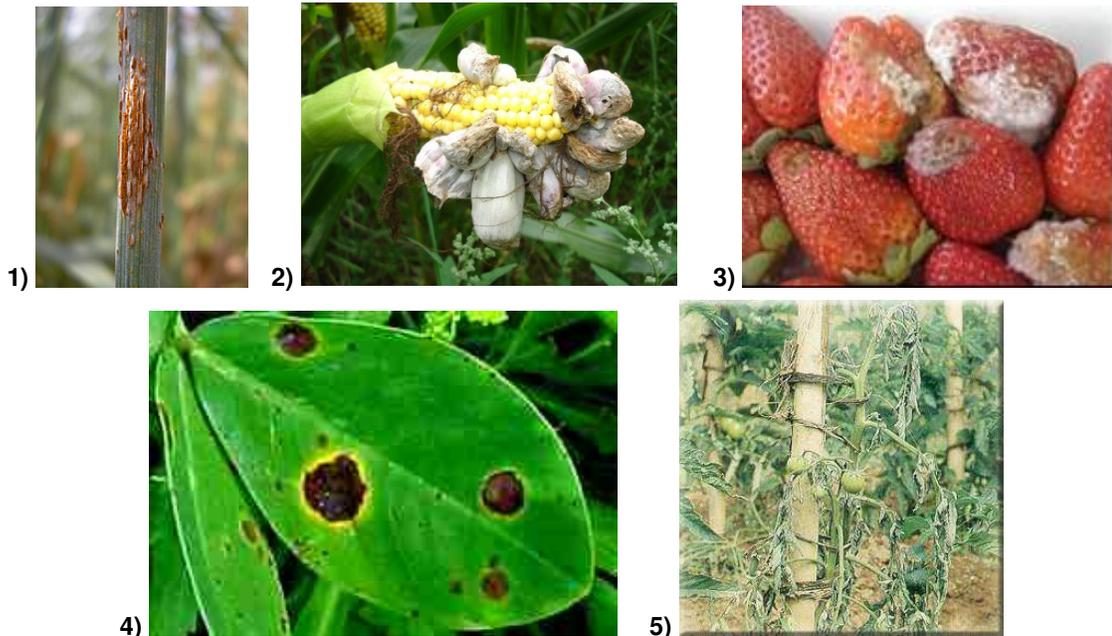
UNIDADE 13

FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

As doenças de plantas são causadas por fungos, bactérias, vírus e outros patógenos. Dentre eles os fungos são mais frequentes. Os fungos fitopatogênicos geralmente são habitantes comuns no solo ou podem ser transmitidos por vetores, vento ou chuva. São parasitos facultativos e outros são obrigatórios (ferrugens, míldio).

A patogenicidade dos fungos sobre as plantas é similar à verificada nas micoses em humanos, ou seja, pela ação de componentes estruturais, produção de enzimas e toxinas. As plantas doentes mostram sintomas, como amarelecimento, manchas, necrose, podridão, murcha, nanismo, superbrotamento, crestamento, mosaico, queda de inflorescência, diminuição na produtividade, morte da planta etc. (Figura 60).

Figura 60- Doenças de plantas: 1. Ferrugem em gramíneas; 2. Carvão no milho; 3. Podridão no morango; 4. Mancha castanha do amendoim; 5. Murcha em tomateiro.



Fonte: 1.<http://www.jardins.com.br/cuidar/images/ferrugem.jpg>;
 2.http://4.bp.blogspot.com/_SO_JYKtl9A8/Rttqxb_Z6ZI/AAAAAAAAABJ8/uX3aJcT1f_4/s320/Ustilago_maydis_de_2.jpg; 3.<http://www.portalsaofrancisco.com.br/imagem.php>
 4.<http://www.ufv.br/dfp/bac/frsol.jpg>
 5.http://www.ufrgs.br/agrofitossan/galeria/tipos_detalhes.asp?id_registro=486&id_nome=40

Qualquer parte da planta pode ser afetada, desde as raízes aos frutos. As doenças fúngicas podem ser localizadas em órgãos ou sistêmica. Sintomas primários: resultantes da ação direta do patógeno sobre os tecidos do órgão afetado (Ex.: manchas foliares e podridões de frutos). Sintomas secundários ou reflexos: exibidos pela planta em órgãos distantes do local de ação do patógeno (Ex.: murchas vasculares e subdesenvolvimento da planta).

Os patógenos de plantas tanto podem causar danos durante o cultivo, como também pós-colheita. As perdas variam, dependendo da doença e da severidade desta. Algumas causam perdas de 100%.

O manejo agrícola, o sistema de cultivo, as condições ambientais e outros fatores podem favorecer o surgimento de patógenos. Microrganismos comuns podem se tornar patógenos na dependência desses fatores. Algumas doenças podem ocorrer em várias culturas, outras podem ocorrer com maior especificidade. Os parasitos obrigatórios desenvolvem uma relação parasito/hospedeiro de maior especificidade, algumas em nível de raça.

Principais doenças causadas por fungos parasitos facultativos:

- Podridão da raiz: causa *damping off*, (murcha);
- Doenças vasculares: desenvolve-se no xilema, causa murcha por parasitos facultativos;
- Manchas foliares: interfere na fotossíntese, destruição de tecidos, necrose, queima, crestamento etc.

Principais doenças causadas por fungos parasitos obrigatórios:

- Mildios: família Peronosporaceae, ocorre em folhas, flores e frutos, afetam a fotossíntese, crescimento, elevado grau de parasitismo (especificidade patógeno/hospedeiro);
- Oídios: parasitos obrigatórios. Formação de massa esbranquiçada (forma de pó) que recobre a área afetada;
- Ferrugens: Uredinales, obrigatórios. Pústulas ferrugíneas, amareladas ou marrons. Macrocíclicas ou heteróicas (cinco fases em mais de um hospedeiro), microcíclica ou autóicas (único hospedeiro);
- Carvões: camada em forma de pó de coloração negra (esporos).

As perdas econômicas podem ser severas, dependendo de uma série de fatores, tanto relacionados ao patógeno, hospedeiro e o ambiente como da interação desses três fatores.

UNIDADE 14

MICRORGANISMOS NO CICLO DO NITROGÊNIO

1. INTRODUÇÃO

O nitrogênio (N) é um dos macronutrientes exigido pelas plantas em maior quantidade. O maior reservatório de N é a litosfera (97,82%), enquanto a biosfera contém 0,02% e a atmosfera 1,96%. Maior fração de N na terra está na forma orgânica, compondo os vegetais, animais e resíduos orgânicos.

As plantas necessitam do N na forma mineral (amônio e nitrato), sendo incapazes de assimilar o nitrogênio elementar da atmosfera (N_2) e o N-orgânico. Como os microrganismos são decompositores, transformam o N-orgânico em formas minerais (mineralização) ou são capazes de fixar biologicamente o N-atm em formas assimiláveis. Existem outras fontes de N para as plantas como o N dos adubos químicos e uma pequena fração do N em decorrência de raios na atmosfera (Figura 61).

Os microrganismos são quem disponibilizam, através de sua atividade metabólica, todo o N necessário às plantas numa floresta, numa pradaria, no ecossistema ou até mesmo as plantas cultivadas, dependendo do manejo. Estes microrganismos são ubíquos e participam da microbiota do solo.

2. TRANSFORMAÇÃO DO N-ORGÂNICO EM N MINERAL

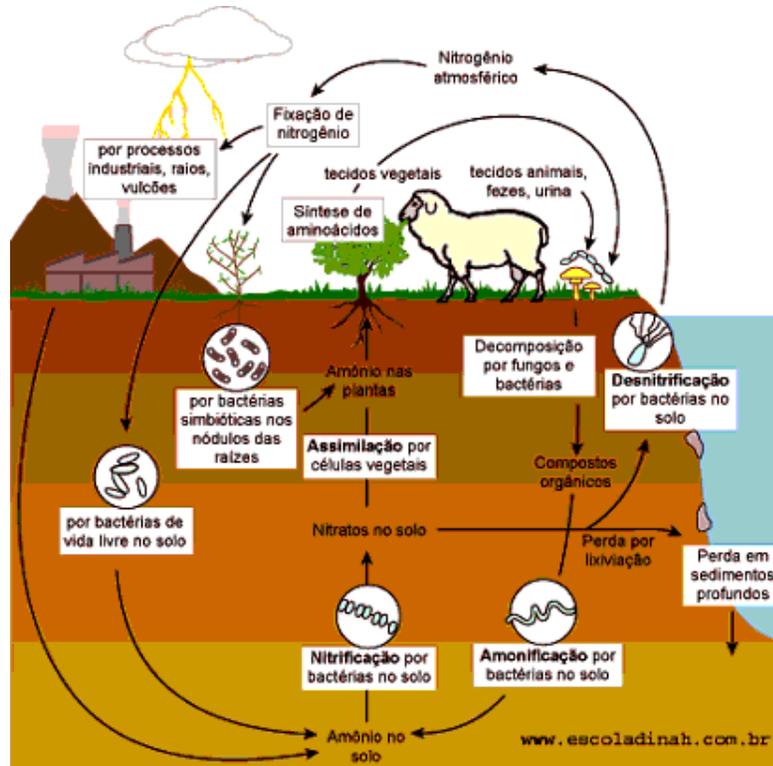
O N-orgânico existe em vários estágios até chegar à fase mineral, que pode ser aproveitada pelas plantas. Portanto, o N-orgânico precisa ser transformado em mineral pelos microrganismos decompositores e pelos responsáveis pela mineralização. Essa transformação é constante em um ecossistema. Sendo assim, sempre haverá N mineral disponível as plantas, em quantidades suficientes e não em excessos, que possa trazer algum problema ao ambiente.

2.1 AMONIFICAÇÃO

Primeira etapa da mineralização, onde o N orgânico é transformado em amônio (NH_4). É uma etapa lenta e vários microrganismos quimiorganotróficos podem participar dessa etapa, em condições aeróbias e anaeróbias.

Após formado no solo o amônio pode ser absorvido pelas plantas, pode ser adsorvido pelos minerais de argila, pode ser fixado pelas argilas tipo 2:1 (não disponível as plantas), pode ser assimilado pelos próprios microrganismos (imobilização) e pode ser oxidado a nitrito por outras bactérias.

Figura 61- Ciclo do nitrogênio



Fonte: <http://www.sobiologia.com.br/figuras/Ar/ciclodonitrogenio.gif>

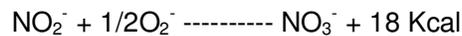
2.2 NITRIFICAÇÃO

Processo estritamente biológico, que transforma o amônio em nitrato (NO_3) por microrganismos quimiolitotróficos e quimiorganotróficos. Ocorre em duas etapas:

- a) Nitritação: transformação do amônio a nitrito (NO_2) por bactérias do gênero *Nitrosomonas*.



- b) Nitratção: transformação do nitrito a nitrato (NO_3) por bactérias do gênero *Nitrobacter*.



O nitrito é tóxico aos organismos (carcinogênico), no entanto a transformação dele em nitrato ocorre rapidamente, desde que as condições de aeração sejam satisfatórias. O nitrato formado pode ser absorvido pelas plantas, por ser pouco adsorvido aos minerais de argila e húmus pode ser lixiviado para córregos, imobilizado por microrganismos (reabsorvidos) e perdido por desnitrificação.

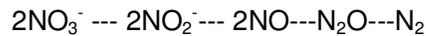
2.3 IMOBILIZAÇÃO

Processo de redução no qual o N mineral é assimilado pelos microrganismos e convertido em produto celular. A imobilização ocorre nas formas de amônio e nitrato. Esse nitrogênio imobilizado torna-se temporariamente indisponível, até que a massa de microrganismo morra e se degrade. A imobilização aumenta conforme a relação C/N do material orgânico: relação C/N acima

de 30/1 ocorre imobilização, sendo estes de transformação mais lenta. A temperatura também é outro fator que afeta a imobilização, devido à influência no metabolismo microbiano.

2.4 DESNITRIFICAÇÃO

A desnitrificação é um processo anaeróbio, no qual o microrganismo passa a utilizar o nitrato ou nitrito como aceptores de elétrons ao invés do oxigênio. Isso faz com que o nitrato ou nitrito seja reduzido a formas gasosas de N (N_2 e N_2O), sendo perdido para a atmosfera.



As principais perdas de N são: desnitrificação do nitrato e nitrito e volatilização da amônia. O principal fator de perda por desnitrificação é a deficiência de aeração no solo, na qual bactérias quimiorganotróficas atuam (*Pseudomonas* spp., *Achromobacter* sp., *Agrobacterium radiobacter*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Alcaligenes faecalis*, *Alcaligenes eutrofus*, *Bacillus azotoformans*, *Bacillus licheniformis*, *Spirillum psychrophillum*).

3. TRANSFORMAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO

3.1 IMPORTÂNCIA AMBIENTAL E ECONÔMICA

Para um grupo de plantas, especialmente as leguminosas, o nitrogênio suficiente para a nutrição da planta pode ser suprido através da simbiose desta com bactérias fixadoras de N. Estas bactérias são comuns no solo e a simbiose mutualística estabelece-se naturalmente. Outras plantas também são capazes de estabelecer relações benéficas com outras bactérias fixadoras de N, a exemplo das gramíneas ou ainda a existência de bactérias de vida livre que também fixam N.

Entre as bactérias fixadoras de N destaca-se *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* em simbiose com leguminosas, uma bactéria Gram negativa, pleomórfica, comum nos solos. As leguminosas são a plantas, em segundo lugar de maior interesse econômico, na exploração agrícola. Cada espécie de bactéria é específica para cada planta.

Todas estas formas de fixação de N são importantes para o ecossistema, porque após o N fixado passa a constituir a matéria e quando esta for decomposta pelos microrganismos, haverá liberação de N mineral para as plantas não fixadoras de N. Por isso que numa floresta todas as plantas se mantêm verdes e saudáveis, mesmo as plantas que não formam simbiose com bactérias fixadoras de N.

Para as plantas de interesse econômico o nitrogênio necessário às plantas pode ser fornecido pelo sistema biológico, inoculando-se as plantas com bactérias fixadoras de N (linhagens selecionadas), utilizando-se a rotação de cultura (fixadoras e não fixadoras), cultivo mínimo ou plantio direto para manter a cobertura orgânica sobre o solo, adubação orgânica etc. O N fornecido na forma de adubos minerais apresenta aspectos a se pensar:

- É desnecessário nos policultivos, pois pode ser fornecido pela rotação de cultura ou pela fixação biológica, no mínimo diminuindo sua aplicação.
- Pode ocasionar intoxicação do ambiente (córregos, açudes) devido as transformações do N em nitrato que é facilmente lixiviado pela água.

3.2 TIPOS DE SIMBIOSES COM BACTÉRIAS FIXADORAS DE N

- Simbiose clássica com formação de nódulos: *Rhizobium*, *Bradrhizobium* x leguminosas
- Simbiose estreita sem formação de nódulos entre bactérias em gramíneas por *Azospirillum*, *Acetobacter*, *Herbaspirillum* etc.
- Simbiose entre bactérias x parte aérea da planta (caule: *Sesbania* e *Neptunia*; folha: *Ardisia*, *Pavetta*)
- Simbiose entre *Frankia* (actinomiceto, bactérias filamentosas) x plantas não leguminosas (*Alnus*, *Myrica*)
- Simbiose entre cianobactérias (*Anabaena*) x *Azolla*
- Simbiose em líquenes (cianobactérias x fungos)
- Fixação por microrganismos de vida livre ou não simbióticos.

3.3 PROCESSO DE ESTABELECIMENTO DA SIMBIOSE CLÁSSICA

- Multiplicação das bactérias na rizosfera: As bactérias são encontradas na rizosfera (camada de solo aderida à raiz da planta). Os exsudatos radiculares liberados pela planta estimulam a multiplicação destas bactérias e promove a quimiotaxia (Figura 62).
- Infecção do pelo radicular: ocorre aderência das bactérias aos pelos radiculares. As lectinas estão envolvidas nesse processo. O pelo radicular torna-se curvo após o processo de infecção, sendo que apenas a bactéria homóloga consegue infectar a planta susceptível.
- Formação do cordão infeccioso: A bactéria penetra o pelo radicular por invaginação e ação enzimática, alojando-se em células do córtex.
- Transformação do bacilo em bacteróide (pleomorfismo): As bactérias se multiplicam e mudam sua morfologia para bacteróides, com formas diversas. As células meristemáticas se multiplicam de forma acelerada, induzidas pelos bacteróides envolvidos por um envelope membranoso, dando origem ao nódulo. Os nódulos são facilmente visíveis e destacáveis da raiz e bastante variáveis quanto à forma, tamanho e distribuição.
- Transformação do N₂: Os bacteróides produzem um pigmento avermelhado, denominado de leg-hemoglobina, responsável pelo transporte de oxigênio associado para os bacteróides. O oxigênio livre afeta o funcionamento da nitrogenase, que é o complexo enzimático responsável pela fixação do N. Para os bacteróides estarem ativos os nódulos devem estar avermelhados no interior, pela presença da leg-hemoglobina.

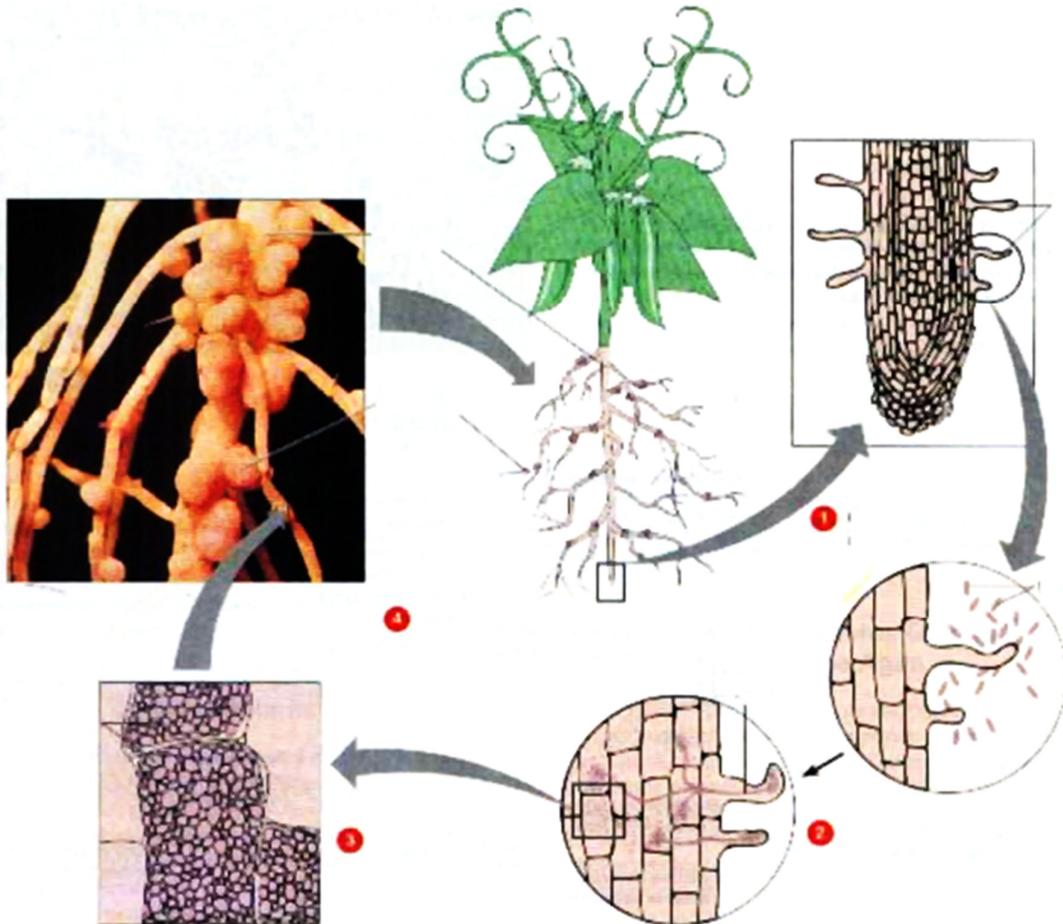
Em plantas arbóreas os nódulos podem ser perenes, enquanto nas plantas anuais os nódulos duram menos tempo. A simbiose induzida, utilizando-se bactérias selecionadas na inoculação resulta em maior eficiência na fixação biológica de N.

PERGUNTAS???



1. Cite os processos biológicos do ciclo do N, com os respectivos microrganismos envolvidos?
2. Qual o papel na leg-hemoglobina?
3. Quais são as formas de perdas de N de forma biológica?
4. Quais os problemas ambientais decorrentes do uso excessivo dos fertilizantes nitrogenados?

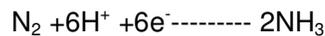
Figura 62- Etapas na formação do nódulo em plantas leguminosas colonizadas por bactérias fixadoras de nitrogênio 1. Rizosfera, 2. Quimiotaxia, formação do cordão infeccioso e encurvamento do pelo, 3. Transformação em bacteróides, 4. Formação dos nódulos



Fonte: TORTORA, FUNKE, CASE (2003).

3.4 MECANISMO DE AÇÃO DA ENZIMA NITROGENASE

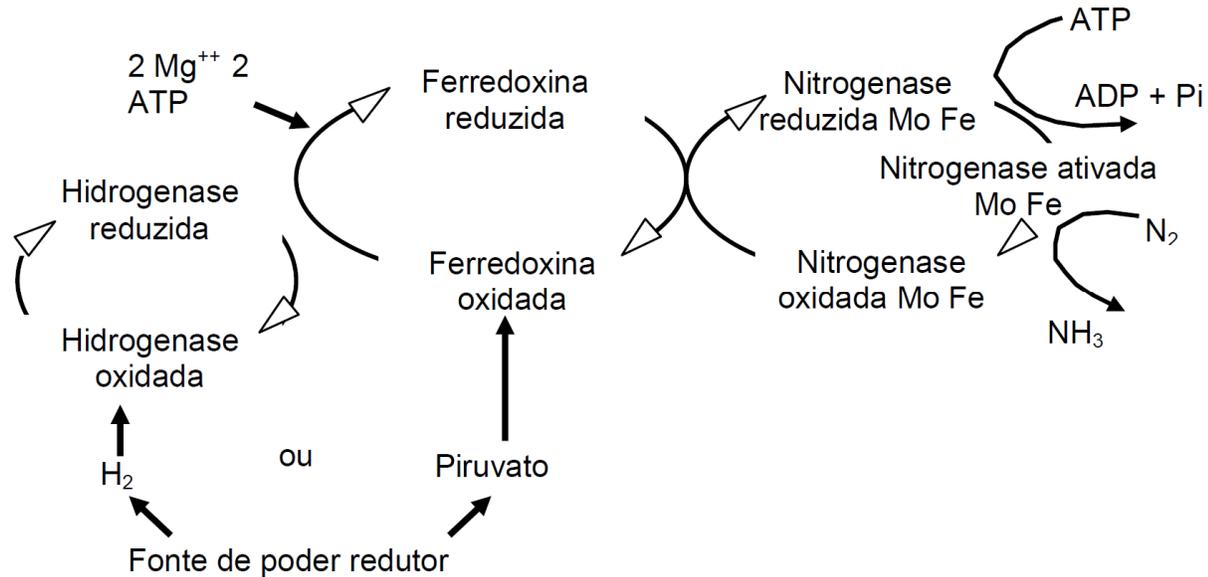
A redução do N₂ atm pelo complexo enzimático nitrogenase requer o consumo de energia na forma de ATP pelo bacteróide, resultando na seguinte reação:



A nitrogenase é constituída por dois componentes protéicos. O componente I (MoFe proteína ou dinitrogenase) depende da presença de molibdênio e ferro (Esquema 3). O componente I liga-se e reduz o N_2 . O componente II (Fe proteína ou nitrogenase redutase) é uma proteína de menor peso, transfere os elétrons para a MoFe proteína.

O N_2 é reduzido a amônia a qual segue a rota metabólica de cada microrganismos, sendo assimilada sob a forma de glutamina pelas enzimas glutamina sintetase, glutamato sintetase, glutamato desidrogenase. A capacidade de fixar nitrogênio na bactéria depende da existência do plasmídio contendo o gene nif. Os microrganismos de vida livre fixam o N necessário ao consumo próprio, enquanto aqueles em simbioses transferem o N_2 fixado para o hospedeiro.

Esquema 3: Mecanismo de ação da nitrogenase na redução do N_2 pelas bactérias fixadoras de nitrogênio (os dois componentes enzimáticos).



Fonte: NASCIMENTO, J.S. (2010)

3.5 FATORES QUE INTERFEREM NA FBN

Os fatores que interferem na simbiose e na fixação biológica de N são: temperatura, umidade, aeração, pH, nutrientes (P, Ca, N, Fe, Mn, Mo) etc. Em solos ricos em N ou deficientes nos demais nutrientes Ca, N, Fe, Mn, Mo a nodulação é menor e ineficiente. As condições de temperatura mesófila, aeróbia, pH próximo à neutralidade e umidade adequada à planta também são favoráveis à simbiose.

UNIDADE 15. CARACTERÍSTICAS GERAIS DE VÍRUS

1. ASPECTOS GERAIS

Os vírus são seres visíveis apenas ao microscópio eletrônico, constituídos apenas por duas classes de substâncias químicas: ácido nucléico (DNA ou RNA) e proteína. São seres acelulares que precisam de células para se replicar, sendo todos os vírus parasitos intracelulares obrigatórios.

O vírus infecta uma célula e direciona o metabolismo celular em seu benefício, visando a replicação. A infecção viral geralmente causa profundas alterações no metabolismo celular, podendo levar à morte das células afetadas. Os vírus causam doenças em plantas e animais, incluindo o homem. Fora da célula hospedeira, os vírus não manifestam nenhuma atividade vital e se houver alguma célula compatível à sua disposição, um único vírus é capaz de originar, em cerca de 20 minutos ou mais, centenas de novos vírus.

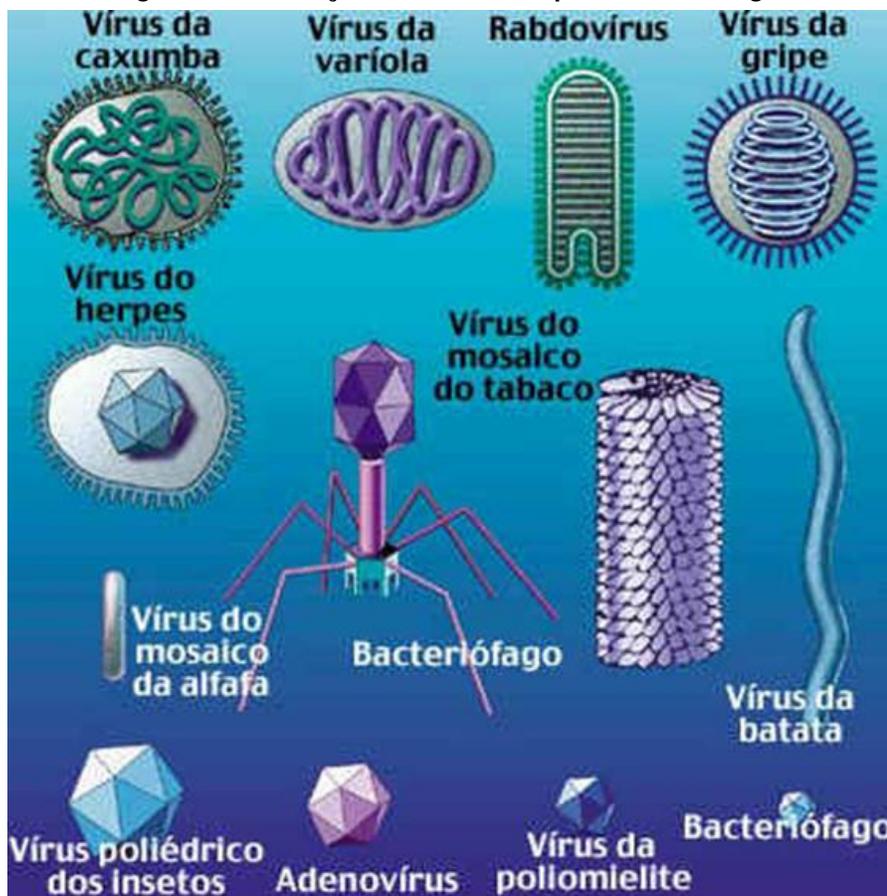
Até o momento, poucas drogas se mostraram eficazes em destruir os vírus sem causar efeitos colaterais. A melhor maneira de combater as doenças virais é através de vacinas. Devido a sua característica de disseminação e replicativa, as doenças virais tomam proporções alarmantes, atingindo populações consideráveis. Algumas doenças virais são fatais, sendo as síndromes infecciosas mais temidas pelos programas de vigilância sanitária, a exemplo do vírus HIV, hepatite B, Ebola etc.

2. MORFOLOGIA VIRAL

Os vírus apresentam dimensões variáveis, medidas em nanômetro, visíveis apenas na microscopia eletrônica. Os menores vírus medem 20nm a exemplo do Picornavírus e os maiores 300nm (Poxvírus).

Devido à constituição simétrica dos vírus, as formas apresentadas são helicoidais (bastão) a icosaédricas (esferas). Exemplo de vírus helicoidal: vírus do mosaico do tabaco. Algumas espécies complexas de viroses apresentam combinações de ambas as formas, sendo denominados de bacteriófagos por infectarem bactérias (Figura 63).

Figura 63- Diferenças entre os vírus quanto à morfologia.



Fonte: <http://www.colegiosaofrancisco.com.br/alfa/virus/imagens/virus-1.jpg>

3.COMONENTES VIRAIS

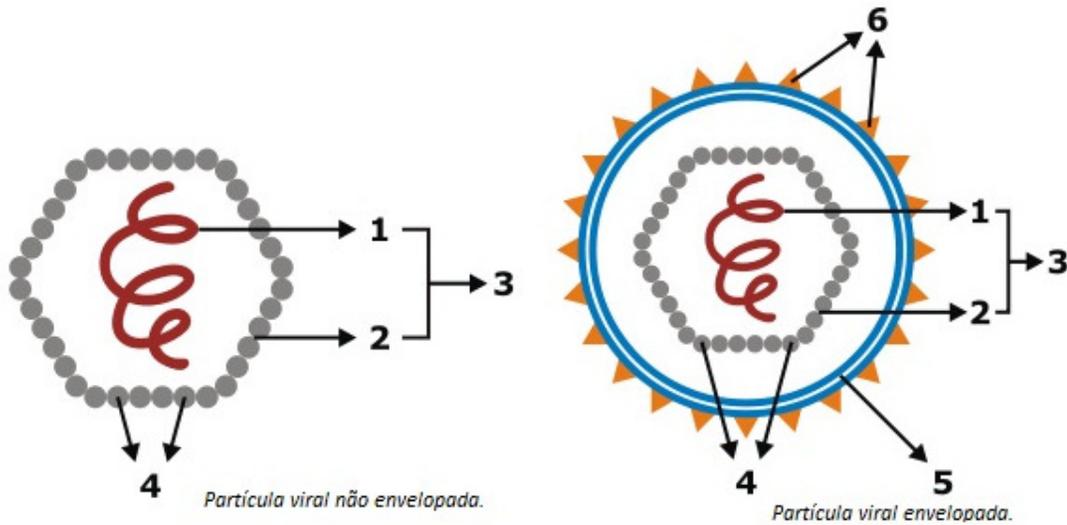
O vírus é constituído por um genoma DNA ou RNA, revestida por um capsídeo de natureza protéica, denominando-se o conjunto de nucleocapsídeo. Alguns vírus podem apresentar um envelope composto por lipídeo, proteína e glicoproteínas, formando um conjunto denominado de vírion (Figuras 64 e 65). Sendo assim, existem DNA vírus e RNA vírus (Quadro 3). Os vírus que infectam plantas são quase todos de RNA.

O capsídeo O envelope protege o vírus contra o sistema imunológico e auxilia na infecção, pois os componentes do envelope são proteínas de fixação às células do hospedeiro.

Os vírus são agrupados conforme a fita de material genético em:

- DNA vírus de fita simples e de fita dupla
- RNA vírus de fita simples e de fita dupla (retrovírus)

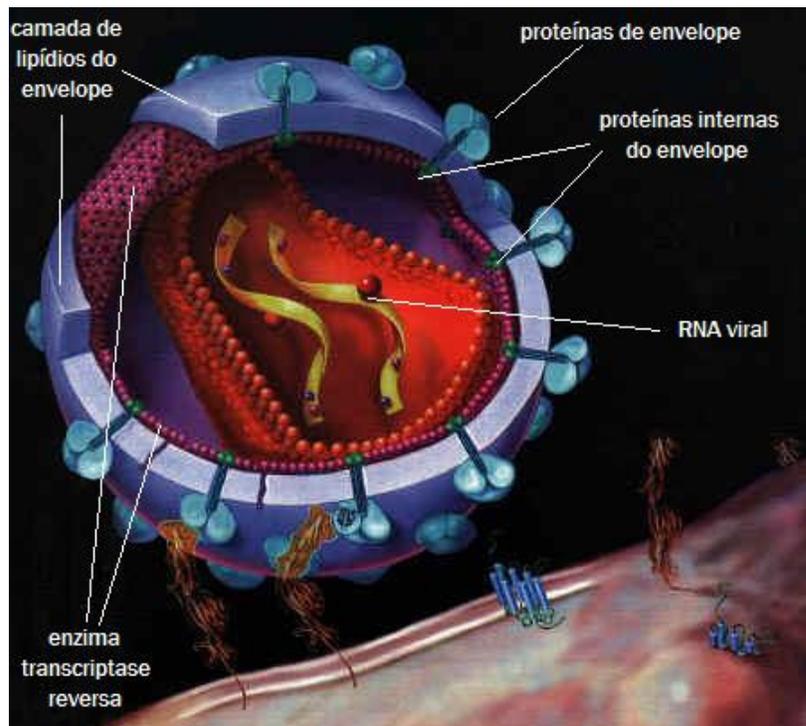
Figura 64- Componentes da partícula viral



1. Acido nucleico: genoma viral.
2. Capsídeo: envoltório proteico que envolve o material genético viral.
3. Nucleocapsídeo: estrutura formada pelo capsídeo, associado ao ácido nucléico que ele engloba.
4. Capsômeros: monômeros proteicos, que agregados compõe o capsídeo.
5. Envelope: membrana lipídica que envolve a partícula viral externamente.
6. Peplômeros: constituídos de glicoproteínas e lipídeos, que são encontradas ancoradas ao envelope.

Fonte: 1. <http://leandromatheusbioifes.wordpress.com/2011/02/15/cavalo-de-troia/> (adaptado)

Figura 65- Componentes da partícula viral (vírus HIV)



Fontes: 1. <http://leandromatheusbioifes.wordpress.com/2011/02/15/cavalo-de-troia/>

Quadro 3. Exemplos de famílias de DNA e RNA vírus.

DNA	Doença
Poxviridae	Vírus da varíola
Papovaviridae	Papiloma: doença sexualmente transmissível
Hepadnoviridae	Vírus da hepatite B
Adenoviridae	Doenças respiratórias
Herpesviridae	Vírus causador de herpes
RNA	
Rhabdoviridae	Vírus da raiva
Retroviridae	Causador da AIDS, leucemia
Flaviviridae	Causador da febre amarela, dengue
Paramixoviridae	Vírus do sarampo, caxumba

Fonte: NASCIMENTO, J.S. (2010)

4. REPLICAÇÃO VIRAL

Os vírus identificam células alvo e replicam-se nestas, com mecanismos diferentes, mas de acordo com o tipo de virose, certos princípios são similares. Como a partícula viral é incapaz de realizar metabolismo, utiliza-se da célula do hospedeiro para sintetizar proteínas.

4.1. RECONHECIMENTO E FIXAÇÃO A CÉLULA DO HOSPEDEIRO

Os vírus podem ser transmitidos de várias formas, destacando-se pelo processo de inalação (causadores de doenças respiratórias: Adenovírus, Rhinovírus, Coronavírus), ingestão (causadores de doenças gastrintestinais: Picornavírus, Reovírus) e contato de mucosa ou de solução de continuidade (vírus sexualmente transmissíveis: Herpesvírus, Retrovírus, Hepadnovírus). Outros vírus são transmitidos através de vetores, como mosquitos, pulgas, carrapatos, percevejos, moscas, pulgões etc (denominadas de arboviroses por ser transmitida por animais: Togavírus, Flavivírus, Rhabdovírus).

Ao reconhecer a célula alvo, as estruturas específicas do capsômero e as glicoproteínas ligam-se aos receptores na célula, que são proteínas ou carboidratos. A aderência viral depende da interação entre receptores específicos da superfície da célula hospedeira e proteínas de aderência (espículas) existentes no cápsideo ou envelope.

4.2. PENETRAÇÃO

Os vírus sem revestimento penetram na célula do hospedeiro por endocitose, enquanto os com envoltório também ocorrem por endocitose ou injeta apenas o material genético no citoplasma da célula.

4.3. DESNUDAMENTO

No caso da penetração do vírus completo, ocorre o desenvolvimento, liberando o material genético do capsídeo e do envelope, se presente. No desnudamento ocorre remoção do capsídeo para expor o genoma viral. A maioria dos DNA vírus é liberado para o núcleo (exceto o Poxvírus) e os de RNA permanece no citoplasma.

O desnudamento ocorre de várias maneiras:

- O capsídeo se funde com a membrana celular, liberando o genoma viral;
- Desintegração do capsídeo (Picornavírus);
- O nucleocapsídeo do herpesvírus rompe a membrana nuclear e libera o genoma diretamente no local de replicação;
- O Reovírus e Poxvírus são apenas parcialmente desnudados antes da replicação.

4.4. SÍNTESE MACROMOLECULAR

A partir deste momento, o genoma viral domina as funções normais da célula. A multiplicação viral ocorre em duas etapas: transcrição e replicação.

O ciclo infeccioso depende da replicação viral, que ocorre da seguinte maneira, conforme a estrutura do genoma e o local de replicação:

- DNA vírus de fita dupla e de fita simples: DNA>RNA>>Proteína
- RNA vírus de fita dupla e de fita simples: RNA>RNA>>Proteína ou RNA>DNA>>RNA>Proteína (Retrovírus).

O DNA vírus requer síntese protéica antes da replicação e o RNAm é produzido em seqüência. A replicação do DNA vírus simples (Ex. Parvovírus, Papovavírus) usa a DNA polimerase DNA dependentes do hospedeiro. Vírus maiores (Ex. Adenovírus, Herpesvírus) codificam suas próprias polimerases. A replicação do DNA viral é semelhante a do DNA celular, porém com maior possibilidade de mutação.

RNA vírus: ocorre a mudança para DNA e depois para RNA para finalmente ocorrer à formação da proteína (transcriptase reversa). A síntese protéica viral ocorre nos ribossomos da célula infectada.

4.5. MONTAGEM

Após ser sintetizado todos os componentes virais, ocorre a montagem do vírion. Os capsídeos são preenchidos com o genoma viral. O envoltório é constituído pela membrana modificada com glicoproteínas virais.

4.6. LIBERAÇÃO

Os vírus envelopados são liberados das células por exocitose (brotamento) da membrana plasmática, sem, no entanto, necessariamente ocorrer lise celular. Na liberação dos capsídeos ocorre lise da célula.

4.7. REINÍCIO DO CICLO DE REPLICAÇÃO

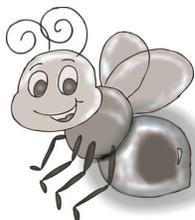
O vírus liberado da célula está apto a causar novas infecções. Alguns vírus (Herpesvírus, Retrovírus e Paramixovírus) causam a transmissão vertical do genoma para as células-filhas.

5. AS DOENÇAS VIRAIS EM HUMANOS E ANIMAIS

Quando o vírus infecta uma célula pode ocorrer imediatamente a replicação viral ou a célula infectada se mantém latente, para multiplicação posterior. Após a replicação na célula do hospedeiro, pode ou não ocorrer lise celular. As células infectadas, sem lise, podem ser alteradas suas características, especialmente de crescimento.

As doenças virais podem ser aguda, crônica e latente. Na infecção não aparente não ocorre lesão no tecido ou se ocorrer, rapidamente este será reparado. As infecções virais ocasionam uma série de efeitos na célula: inibem a síntese protéica celular, inibe a síntese de DNA celular, causa rompimento da membrana e parede celular, causa alterações fisiológicas e morfológicas na célula. Por outro lado, o organismo apresenta defesas contra as infecções virais, tanto naturais e não específicas quanto imunes. A resposta imune, por ser específica, é a mais eficiente em interferir no avanço de uma infecção viral.

FIQUE LIGADO!!!



Entre as doenças virais, destacam-se:

- Cérebro: encefalite, raiva, meningite;
- Boca: estomatite, herpes;
- Pele e mucosas: Varicela-zoster, sarampo, rubéola;
- Fígado: Hepatites, febre amarela;
- Coração: miocardite, pericardite;
- Olhos: conjuntivite;
- Pulmão: gripe, faringite;
- Intestino: diarréia, vômitos;
- Urogenital: verrugas, lesões, herpes.

6. AS DOENÇAS VIRAIS EM PLANTAS

O primeiro vírus conhecido no mundo foi o causador do mosaico do tabaco. As plantas infectadas por vírus apresentam diversos sintomas, desde os sintomas localizados aos sistêmicos. Entre os vírus que infectam plantas predominam o tipo RNA. As viroses são mais comuns entre as plantas cultivadas, levando a perda econômica significativa.

Após a planta ser infectada, os vírus são disseminados célula a célula (via plasmodesmas) ou vascular (floema: descendente; xilema: ascendente). Já a transmissão do vírus para as plantas adjacentes pode ocorrer por:

- Solução de continuidade, entre as plantas que crescem muito próximas através do atrito entre a parte aérea;
- Através da propagação vegetativa, utilizando-se partes de uma planta infectada ou unindo-se tecidos infectados com sadios (enxertia);
- Através de sementes procedentes de plantas doentes, onde o vírus permanece no tegumento ou no embrião;
- Através da polinização;
- Através de ácaros, nematóides e fungos como vetores;
- Através de insetos, como os pulgões, cigarrinhas, moscas, cochonilhas, percevejos, besouros, tripés, gafanhotos.

A transmissão de vírus por vetores é a mais comum. Ocorre de três formas:

- Transmissão não persistente: não há período de incubação no vetor; perde após curto período de infecção, pois o vírus localiza-se na epiderme, parênquima e superfície (Ex. Mosaico da beterraba);

- Semi-persistente: o vírus multiplica-se no vetor, mas não há circulação, eliminando a carga viral com a ecdise (Ex. vírus da tristeza do citros);
- Persistente: há maior especificidade vírus-vetor, onde este se propaga e circula no vetor, não se perde com a ecdise. O vírus circula na hemolinfa e permanece na progênie. (Ex. Vírus da nervura amarela).

Os sintomas sistêmicos são clorose, mosaico, nanismo, superbrotamento, palidez da nervura, espessamento da folha, murcha, maturação precoce, esterilidade, menor rendimento, má qualidade do produto. Já os sintomas localizados são locais clorose, necrose (Figura 66).

Figura 66- Plantas com sintomas típicos de viroses: 1. Tristeza do citros, 2. Gomose, 3. Nervura da videira, 4. Mosaico do feijão, 5. Vira-cabeça tomateiro, 6. Viroses em orquídeas.



Fonte: 1.http://www.ars.usda.gov/images/docs/8361_8555/cvc1.jpg;

2.http://www6.ufrgs.br/agronomia/fitossan/glossario/imagens/gomose_G.jpg

3.<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvasSemSementes/imagens/virus008.jpg> 4.<http://www.cnpaf.embrapa.br/feijao/imagens/mosaicodourado.jpg>

5.<http://www.ufrgs.br/agrofitossan/galeria/imagens/fotos/203-viracabea1a.jpg>

6.http://4.bp.blogspot.com/_wliiCzCYX5o/SFL9DNpnPal/AAAAAAAAAUw/YXBmRcU2ITQ/s320/V%C3%A9rus-do-mosaico-do-cymbidium06.jpg

REFERÊNCIAS

- ACTOR, J.K. **Imunologia e microbiologia**, Rio de Janeiro: Elsevier, 2007, p.184.
- ALEXOPOULOS, C.J., MIMS, C.W., BLACKWELL, M. **Introductory mycology**. 4.ed. New York: John Wiley & Sons, 1996. 869p.
- HERRERA, T., ULLOA, M. **El reino de los hongos: micología básica y aplicada**, 2.ed. México: Universidad Nacional Autónoma de México, 552p. 1998.
- http://www2.bc.cc.ca.us/bio16/images/22-02_Pseudomembrane_1.jpg > acesso em 05/07/2009.
- http://3.bp.blogspot.com/_BY-iWkqQTyA/R3-ikGx1hCI/AAAAAAAAATo/0SQOn34v5AY/s400/aperto+de+m%C3%A3o+2.bmp > acesso em 05/07/2009.
- http://2.bp.blogspot.com/_Rd7r9Y23g9A/RxUEyvZibI/AAAAAAAAABE/vSb4tBUY_n8/s400/c%C3%A3o.bmp > acesso em 05/07/2009.
- http://3.bp.blogspot.com/_lUr8M7oFb4/R-e0Rt-XpDI/AAAAAAAAA0o/vF2ScjBIXD8/s400/arranhao.jpg > acesso em 05/07/2009.
- http://3.bp.blogspot.com/_kv1uWWHayTQ/SVlleo4Va3I/AAAAAAAAAZhA/IQAawwkL8_8/s400/espirro.jpg > acesso em 05/07/2009.
- http://4.bp.blogspot.com/_SO_JYKtl9A8/Rttqxb_Z6ZI/AAAAAAAAABJ8/uX3aJcT1f_4/s320/Ustilago_maydis_de_2.jpg > acesso em 05/07/2009.
- http://4.bp.blogspot.com/_wliiCzCYX5o/SFL9DNpnPal/AAAAAAAAAUw/YXBmRcU2ITQ/s320/V%C3%ADrus-do-mosaico-do-cymbidium06.jpg > acesso em 05/07/2009.
- <http://anatpat.unicamp.br/lampele5.html> > acesso em 05/06/2012.
- <http://anatpat.unicamp.br/biinflparacoco1.html> > acesso em 05/06/2012.
- http://botit.botany.wisc.edu/toms_fungi/feb98.html > acesso em 05/06/2012.
- http://botit.botany.wisc.edu/toms_fungi/saprolegnia.html > acesso em 05/06/2012.
- http://br.geocities.com/insecta_tv/Musca-domestica.JPG > acesso em 05/07/2009.
- http://cueflash.com/decks/Micro_03_-_Systemic_Mycoses > acesso em 05/06/2012.
- http://crv.educacao.mg.gov.br/sistema_crv/banco_objetos_crv/%7B9DBB39BF-442E-4C90-AB18-C034F4FA9AEA%7D_0701_image002.gif > acesso em 05/07/2009.

<http://dermatlas.med.jhmi.edu/derm/indexDisplay.cfm?ImageID=-763630613> > acesso em 05/06/2012.

<http://dhiez.files.wordpress.com/2008/05/cholera.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://diggingri.wordpress.com/2010/02/08/weird-garden-diseases-part-i/> > acesso em 05/06/2012.

<http://florabrasilienses.blogspot.com.br/2009/05/o-reino-fungi.html> > acesso em 05/06/2012.

<http://io.uwinnipeg.ca/~simmons/16cm05/1116/27-x1-ProkaryoteConjugation.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://io.uwinnipeg.ca/~simmons/images/cupfundr.gif> > acesso em 05/07/2009.

<http://leandromatheusbioifes.wordpress.com/2011/02/15/cavalo-de-troia/> > acesso em 05/06/2012.

<http://media.photobucket.com/image/divisao%20binaria/Oforhiahrage/Cpiadereplicaobacterina.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://media.photobucket.com/image/pili%20sexual%20bacteria/roland98/27-06-Pili.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://media-2.web.britannica.com/eb-media/11/1123611-004-4B9499BB.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://medinfo.ufl.edu/year2/mmid/bms5300/images/a5.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://microbewiki.kenyon.edu/images/thumb/1/13/Carl34ChytridCycle3.jpg/300px-Carl34ChytridCycle3.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://microbiologiayepidemiologia.blogspot.com.br/2012/06/trichophyton-rubrum-trichophyton.html> > acesso em 05/06/2012.

<http://nationalnursingreview.com/2010/12/what-is-diphtheria/> > acesso em 05/06/2012.

http://nursextime.files.wordpress.com/2008/11/escherichia_coli.jpg > acesso em 05/07/2009.

http://oglobo.globo.com/fotos/2007/12/11/11_MVG_viv_carnes_3253.jpg > acesso em 05/06/2012.

http://pt.wikipedia.org/wiki/%C3%81rvore_filogen%C3%A9tica > acesso em 05/06/2012.

<http://saude.culturamix.com/higiene/infeccao-de-unha> > acesso em 05/06/2012.

<http://schools-wikipedia.org/images/646/64609.png> > acesso em 05/07/2009.

http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0375-07602005000300013&script=sci_arttext > acesso em 05/06/2012.

<http://scienceblogs.com.br/meiodecultura/tag/mutacao/> > acesso em 05/06/2012.

<http://scienceblogs.com.br/meiodecultura/tag/transferencia-horizontal-de-genes/> > acesso em 05/06/2012.

<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvasSemSementes/images/virus008.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://static.howstuffworks.com/gif/virus-human-lytic.gif> > acesso em 05/07/2009.

<http://www.aafp.org/afp/2003/0101/p101.html> > acesso em 05/06/2012.

http://www.ars.usda.gov/images/docs/8361_8555/cvc1.jpg > acesso em 05/07/2009.

<http://www.biology.iastate.edu/Courses/211L/Sordaria/perithecium%20releases%20asci.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://www.biology.lsu.edu/heydrjay/1002/Chapter24/lifecycles/Ascomycota.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://www.biology.lsu.edu/heydrjay/1002/Chapter24/lifecycles/Basidiomycota.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://www.biology.lsu.edu/heydrjay/1002/Chapter24/lifecycles/Zygomycota.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://www.christinas-home-remedies.com/image-files/candida-albicans-picture1.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://www.cnpaf.embrapa.br/feijao/imagens/mosaicodourado.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://www.colegiosaofrancisco.com.br/alfa/virus/imagens/virus-1.jpg> > acesso em 05/07/2009.

http://www.craigleithhill.co.uk/images/Mycobacterium_tuberculosis_Ziehl-Neelsen_stain_02.jpg > acesso em 05/07/2009.

http://www.dac.uem.br/micologia/micoses_subcutaneas.php > acesso em 05/06/2012.

http://www.dac.uem.br/micologia/micoses_sistemicas.php > acesso em 05/06/2012.
<http://www.dermatologia.net/novo/base/doencas/esporetrose.shtml> > acesso em 05/06/2012.

http://www.fiocruz.br/ccs/media/Candida_albicans2.gif > acesso em 05/07/2009.

<http://www.ginorte.com.br/textos/candidiase.htm> > acesso em 05/06/2012.

<http://www.globale-dermatologie.com/as-infecoes-de-pele-por-fungos-e-leveduras-micoseportugues.html> > acesso em 05/06/2012.

http://www.grupocultivar.com.br/arquivos/hf29_disseminador.pdf > acesso em 05/06/2012.

<http://www.healthype.com/tinea-capitis-scalp-ringworm-hair-fungal-infection-pictures.html>
> acesso em 05/06/2012.

<http://www.japantimes.co.jp/images/photos2008/nn20081021a8a.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://www.jardins.com.br/cuidar/images/ferrugem.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://www.meionorte.com/imagens/COL63Paciente-internada-no-HUT-morre-pouco-depois-de-receber-alta.-Parentes-de-pacientes-fazem-denuncias.jpg> > acesso em 05/07/2009.

http://www.microbeworld.org/index.php?option=com_jlibrary&view=article&id=1097 > acesso em 05/06/2012.

<http://media.photobucket.com/image/divisao%20binaria/Oforhiahrage/Cpiadereplicaobacterina.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://www.mdsauade.com/2009/09/tetano.html> > acesso em 05/06/2012.

http://www.microbelibrary.org/microbelibrary/files/cclImages/Articleimages/Atlas_Endospore/Bacillus%20species_Endospore%20stain_fig14.jpg > acesso em 05/07/2009.

<http://www.mold.ph/fonsecaea.htm> > acesso em 05/06/2012.

<http://www.odontoblogia.com.br/estomatologia-2/queilite-angular-boqueira/> > acesso em 05/06/2012.

<http://www.oralchelation.com/viewpoint/images/virus2.gif> > acesso em 05/07/2009.

<http://www.portalsaofrancisco.com.br/imagem.php> > acesso em 05/06/2012.

<http://www.redeeduca.com.br/editor/assets/codon.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://www.ricardosgomez.com/paracoccidioidomicrose/> > acesso em 05/06/2012.

<http://www.scb.org.br/inspiracao/naturezaviva/imagens/28-1-a-Escherichiacoli.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://www.sobiologia.com.br/figuras/Ar/ciclodonitrogenio.gif> > acesso em 05/07/2009.

http://www.steadyhealth.com/articles/user_files/11361/Image/Helicobacter%20The%20Bacteria%20that%20Cause%20Ulcers.jpg > acesso em 05/07/2009.

<http://www.telmeds.org/atlas/micologia/levaduras/malassezia-furfur/> > acesso em 05/06/2012.

<http://www.ufrgs.br/agrofitossan/galeria/imagens/fotos/203-viracabeca1a.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://www6.ufrgs.br/agronomia/fitossan/glossario/imagens/gomose G.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://www.ufv.br/dfp/bac/frsol.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://www.uoguelph.ca/~gbarron/MISCELLANEOUS/uncinu2.jpg> > acesso em 05/07/2009.

<http://www.vetsilvestre.com.br/artigos/index.php?&art=fungos%20de%20ferrets.htm> > acesso em 05/06/2012.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. *Microbiologia de Brock*, 10.ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2004, 608p.

MIMS, C.A., PLAYFAIR, J.H., ROITT, I.M., WAKELIN, D., WILLIAMS, R. **Microbiologia médica**. São Paulo: Manole, 1995, p.18-38.

MURRAY, P.R., DREW, W.L., KOBAYASHI, G.S., THOMPSON, J.K. **Microbiologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 5.ed, 2005.

NASCIMENTO, J.S. Biologia de microrganismos. In. GUERRA, R.A.T. (Org.). **Cadernos CB Virtual 4**. João Pessoa: UFPB, 2010, v.4, p.233-306.

TORTORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L. **Microbiologia**, 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2003. 827p.

TRABULSI, L.R., ALTERTHUM, F., GOMPERTZ, O.F., CANDEIAS, J.A.N. **Microbiologia**. 5.ed. São Paulo: Atheneu, 2008.