

Copyright ©1998 Springhouse Corporation



História da Microbiologia

Morfologia e Citologia Bacteriana Ciências Biológicas

Professora: Vânia Lúcia da Silva

Microbiology



Aspectos Históricos da Microbiologia

Era uma vez...

... a vontade do Homem em conhecer a vida que o rodeia, sobretudo aquilo que não é visível.

- Até o século XVII, o avanço da microbiologia foi prejudicado pela falta de equipamentos apropriados para observar os micróbios.
- 1665: **Robert Hooke** - relatou que as menores unidades vivas eram “pequenas caixas”, ou “células”.
- **Teoria celular**



- 1673 -1723: **Anton van Leeuwenhoek** - foi o primeiro a observar micro-organismos vivos através de lentes de aumento com resolução de 300 a 500 vezes.

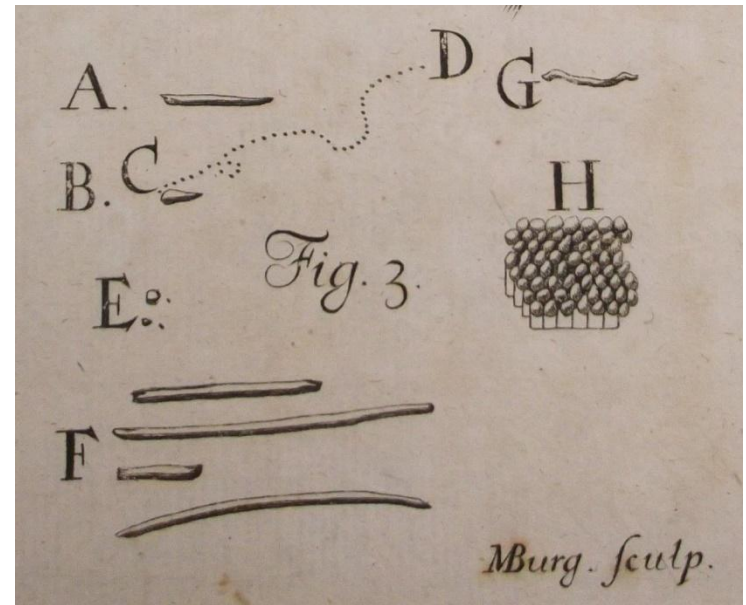


(a) Van Leeuwenhoek utilizando seu microscópio



**van Leeuwenhoek's
Microscope
(circa late 1600s)**

- Observou e descreveu os microrganismos ("**animálculos**")
- Fez desenhos detalhados de "animálculos" de água da chuva, de suas próprias fezes e de material raspado de seus dentes – Sociedade Real de Londres
- *"eu posso julgar por mim mesmo (apesar de limpar a minha boca, como já disse), que todas as pessoas que vivem nesse país não são tantas quanto os animais vivos que eu carrego em minha própria boca hoje"*
- **Leeuwenhoek** é considerado o fundador da microbiologia

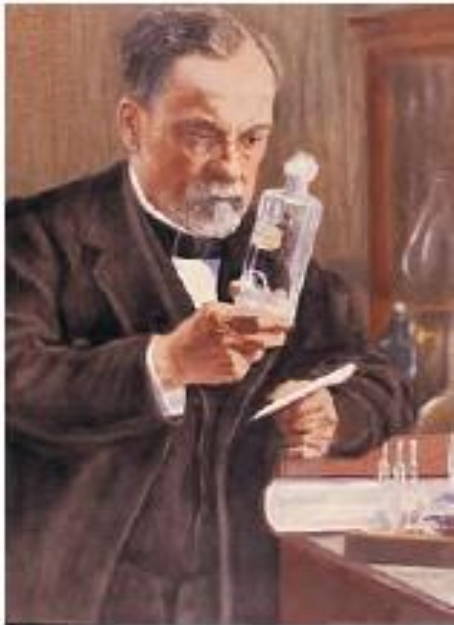


O progresso da Microbiologia ficou vinculado ao desenvolvimento de instrumentos e técnicas pertinentes ao seu estudo, tais como microscópios com maior poder de resolução e técnicas de cultivo e coloração de estruturas celulares.

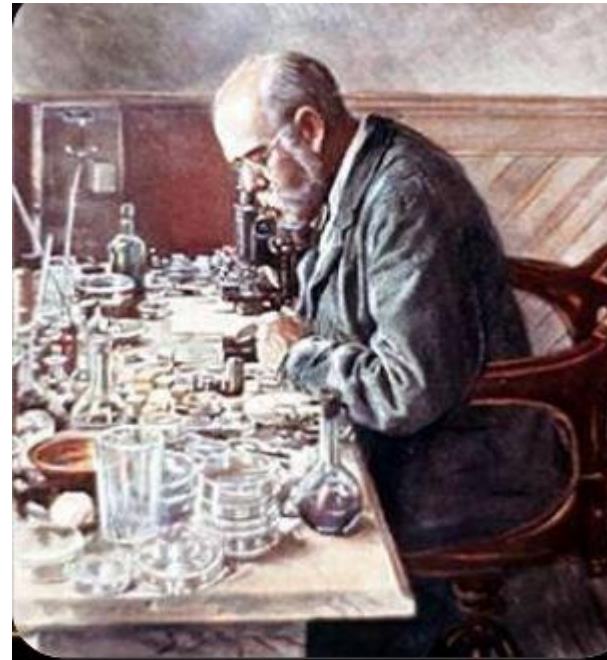
A Microbiologia como Ciência começa a ter um verdadeiro avanço a partir de meados do século XIX, com o desenvolvimento de microscópios de alta qualidade juntamente com o aperfeiçoamento de técnicas de esterilização e cultivo de microrganismos.

A idade de ouro da microbiologia

- 1857 a 1914 - Avanços rápidos - Pasteur e Robert Koch



Louis Pasteur (1822-1895)
Demonstrou que a vida não surge espontaneamente de matéria não viva.

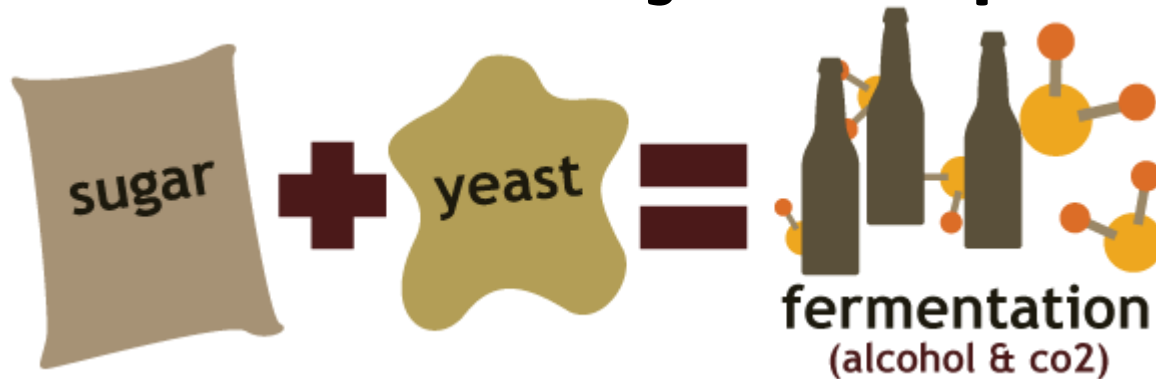


Sec. XIX: Estabelecimento da Microbiologia como uma Ciência

- Descoberta de agentes de muitas doenças; papel da imunidade na prevenção e na cura das doenças;
- Atividades químicas de micro-organismos;
- Aperfeiçoamento das técnicas de microscopia e cultivo de microrganismos;
- Desenvolvimento de vacinas e técnicas cirúrgicas



Fermentação e pasteurização



- Naquele tempo, muitos cientistas acreditavam que o **ar** convertia os açúcares desses fluidos em álcool.
- Micro-organismos chamados de leveduras convertiam os açúcares em álcool na ausência de ar → **fermentação**
- Grupo de mercadores franceses pediu a **Pasteur** que descobrisse porque o vinho e a cerveja azedavam.
- Desenvolvimento de um método que impedisse a deterioração dessas bebidas.

- O azedamento e a deterioração eram causados por micro-organismos diferentes. Na presença de ar, as bactérias transformam o álcool da bebida em vinagre (ácido acético).
- A solução de Pasteur para o problema da deterioração foi o aquecimento da cerveja e do vinho o suficiente para matar a maioria das bactérias que causavam o estrago.



Pasteurização

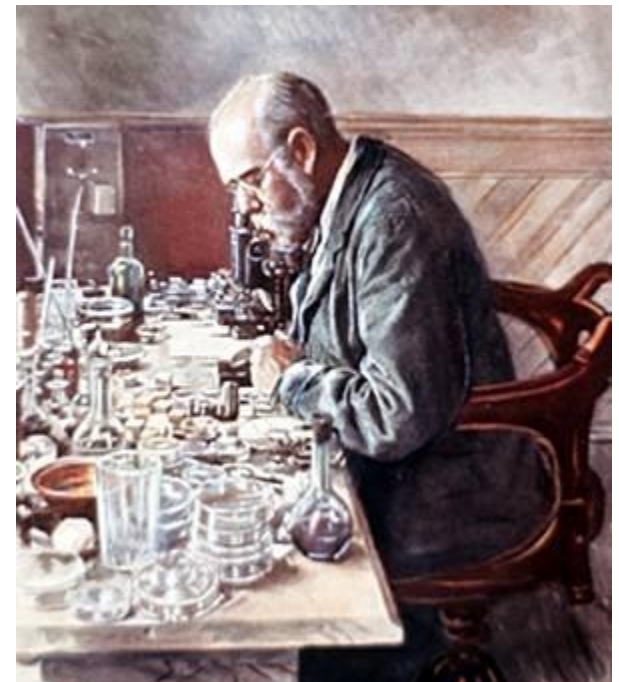


Demonstração da relação entre a deterioração de alimentos e os micro-organismos foi a etapa mais importante para o estabelecimento da relação entre doenças e micro-organismos

➤ No final da década de 1870, Koch interessou-se pelo carbúnculo. Analisando sangue de vítimas do carbúnculo ao microscópio, observou a presença de uma bactéria de grandes dimensões. Desenvolvendo técnicas microbiológicas, Koch conseguiu isolar a bactéria.

Animais sadios inoculados com a bactéria purificada apresentavam os sintomas clássicos do carbúnculo. A partir do sangue destes animais, Koch re-isolou mesma bactéria. Ele repetiu o experimento, sempre re-isolando a bactéria dos animais experimentalmente infectados até que tivesse certeza que tinha encontrado o agente da doença.

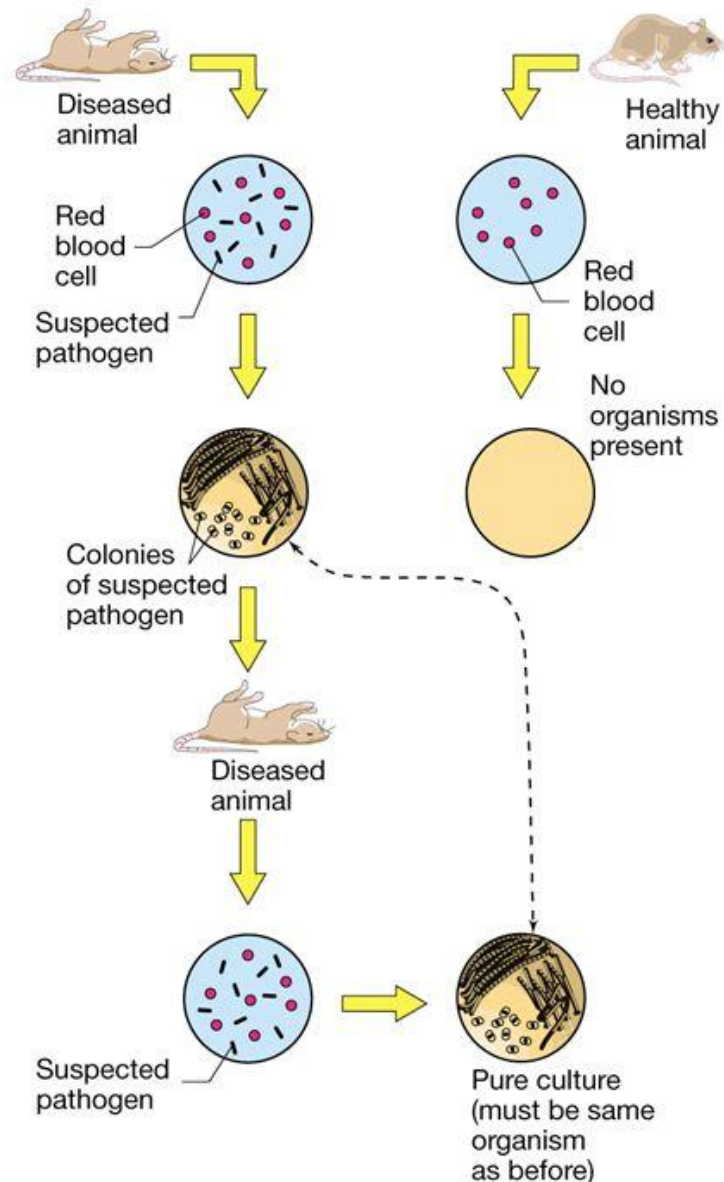
Koch também descobriu os agentes etiológicos da cólera e da tuberculose, as bactérias *Vibrio cholerae* e *Mycobacterium tuberculosis*, respectivamente. A bactéria *M. tuberculosis* é ainda hoje denominada bacilo de Koch. Seus estudos, combinados com os de Pasteur, estabeleceram a Teoria do Germe da Doença.



Em 1877, Koch formulou um conjunto de postulados os quais afirmava deveriam ser adotados para que se aceitasse uma relação entre um micro-organismo em particular e uma doença.

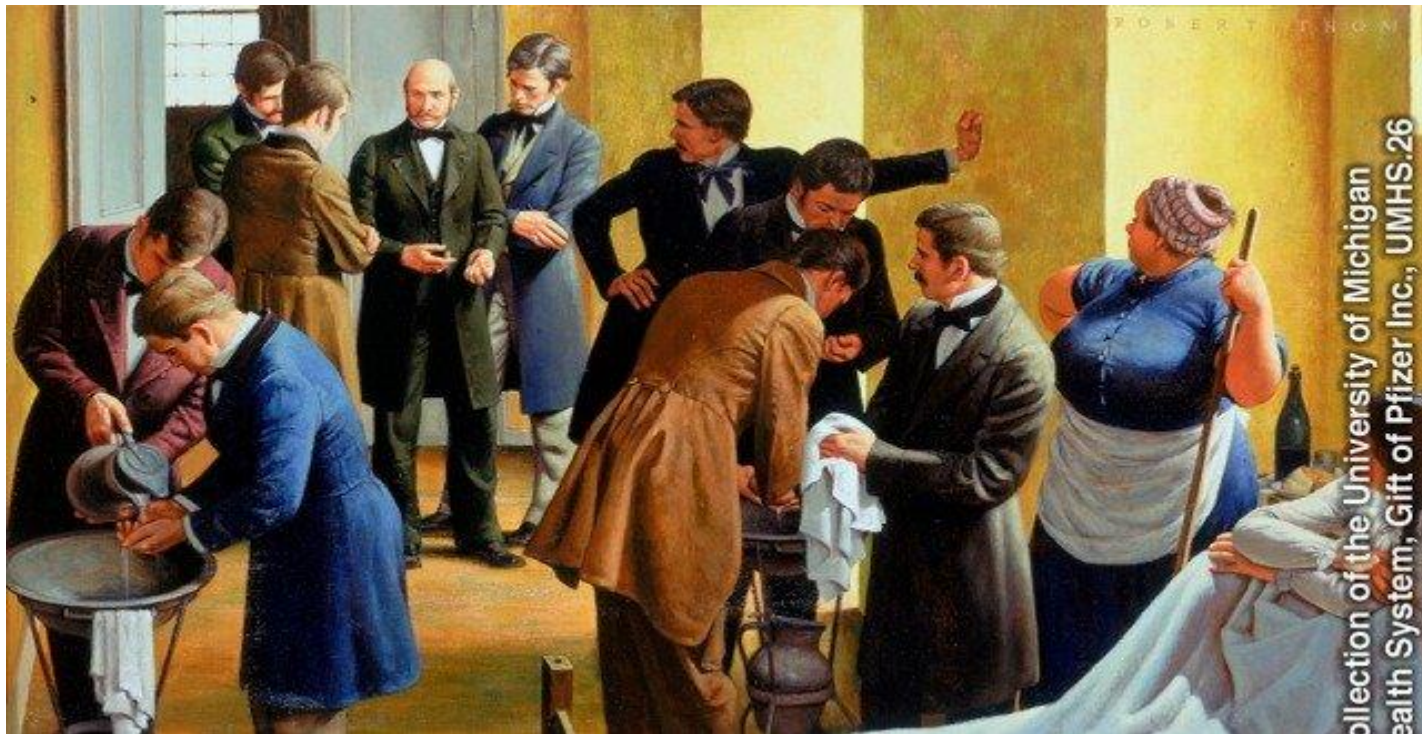
Postulados de Koch

1. O mesmo patógeno deve estar presente em todos os casos da doença
2. O patógeno deve ser isolado do hospedeiro doente e crescer em cultura pura
3. O patógeno da cultura pura deve reproduzir a doença quando inoculado em um animal de laboratório saudável (cobaia)
4. O patógeno deve ser isolado da cobaia, demonstrando que ele é semelhante ao patógeno original (2)



➤ Ignaz Philipp Semmelweis - médico húngaro eternizado como "salvador das mães" – Hospital Geral de Viena

✓ 1847: redução na incidência de febre puerperal pela prática da anti-sepsia das mãos. Os médicos matavam 3x mais que as parteiras naquela região.



➤ Florence Nightingale – 1854 - Guerra da Crimeia

(Conflito nos Bálcãs envolvendo o Império Russo e, uma coligação integrada pelo UK, França, Itália, Império Turco-Otomano e o Império Austríaco)

✓ Alta mortalidade entre os soldados Britânicos. Associação entre higiene e diminuição da mortalidade – sanitarismo



E nos anos seguintes ...

- Nova fase na história da Microbiologia - interesses estavam em estudar as causas das doenças e associá-las a microrganismos
- Microscópios foram se tornando mais acessíveis e descobertas novas formas de corar os micro-organismos com objetivos de torna-los visíveis.

- 1665 Hooke—Primeira observação das células
- 1673 van Leeuwenhoek—Primeira observação dos microrganismos vivos
- 1735 Linnaeus—Nomenclatura para os microrganismos
- 1798 Jenner—Primeira vacina
- 1835 Bassi—Fungos do bicho-da-seda
- 1840 Semmelweis—Febre das crianças recém-nascidas
- 1853 DeBary—Doenças em plantas causadas por fungos

- 1857 Pasteur—Fermentação
- 1861 Pasteur—Refutou a geração espontânea
- 1864 Pasteur—Pasteurização
- 1867 Lister—Cirurgia asséptica
- 1876 *Koch—Teoria do germe da doença
- 1879 Neisser—*Neisseria gonorrhoeae*
- 1881 *Koch—Culturas puras
- Finley—Febre amarela
- 1882 *Koch—*Mycobacterium tuberculosis*
- Hess—Meio agár (sólido)
- 1883 *Koch—*Vibrio cholerae*
- 1884 *Metchnikoff—Fagocitose
- Gram—Método Gram de coloração bacteriana
- Escherich—*Escherichia coli*
- 1887 Petri—Placas de Petri
- 1889 Kitasato—*Clostridium tetani*
- 1890 *von Bering—Toxina contra a difteria
- *Ehrlich—Teoria da imunidade
- 1892 Winogardsky—Ciclo da sulfura
- 1898 Shiga—*Shigella dysenteriae*
- 1910 Chagas—*Trypanosoma cruzi*, *Ehrlich—Sífilis

IDADE DE OURO DA MICROBIOLOGIA

- 1928 *Fleming, Chain, Florey—Penicilina
- Griffith—Transformação bacteriana
- 1934 Lancelfield—Antígenos de *Streptococcus*
- 1935 *Stanley, Northrup, Summer—Cristalização de vírus
- 1941 Beadle e Tatum—Relação entre genes e enzimas
- 1943 *Deibruck e Luria—Infecção viral bacteriana
- 1944 Avery, MacLeod, McCarty—O DNA é o material genético
- 1946 Lederberg e Tatum—Conjugação bacteriana
- 1953 *Watson e Crick—Estrutura do DNA
- 1957 *Jacob e Monod—Regulação da síntese protéica
- 1959 Stewart—Causa viral do câncer
- 1962 *Edelman e Porter—Anticorpos
- 1964 Epstein, Achong, Barr—Vírus Epstein-Barr como causa de câncer humano
- 1971 *Nathans, Smith, Arber—Enzimas de restrição (usadas na engenharia genética)
- 1973 Berg, Boyer, Cohen—Engenharia genética
- 1975 Dulbecco, Temin, Baltimore—Transcriptase reversa
- 1978 Woese—Archaea; *Arber, Smith, Nathans—Endonucleases de restrição
- *Mitchell—Mecanismo quimiostático
- 1981 Margulis—Origem das células eucarióticas
- 1982 *Klug—Estrutura do vírus do mosaico do tabaco
- 1983 *McClintock—Transposons
- 1988 *Deisenhofer, Huber, Michel—Pigmentos fotossintéticos bacterianos
- 1994 Cano—Cultivo de bactérias com 40 milhões de anos de idade
- 1996 Zare—Fósseis em um meteorito de Marte



Louis Pasteur (1822-1895)



Robert Koch (1843-1910)



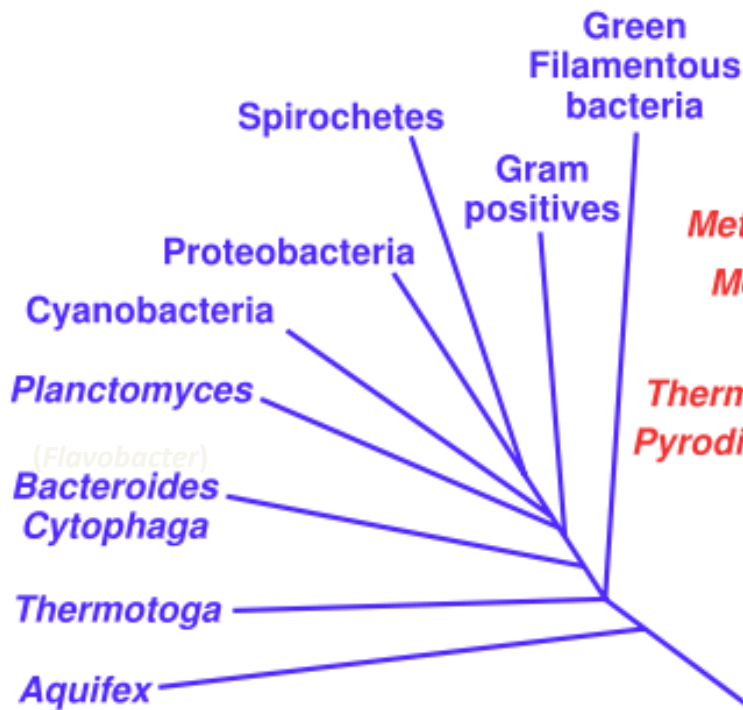
Rebecca C. Lancefield (1895-1981)
Cortesia do Rockefeller Archive Center

*Nobel laureados

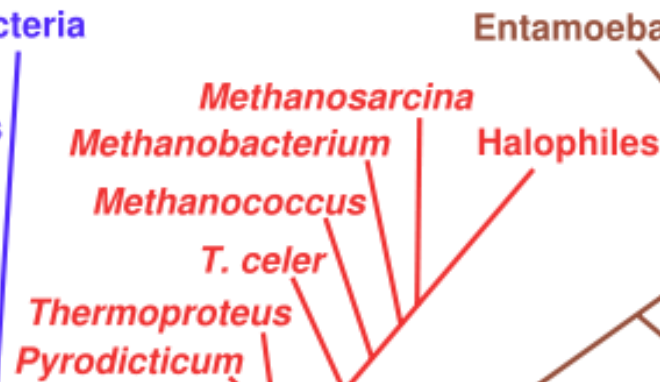


Phylogenetic Tree of Life

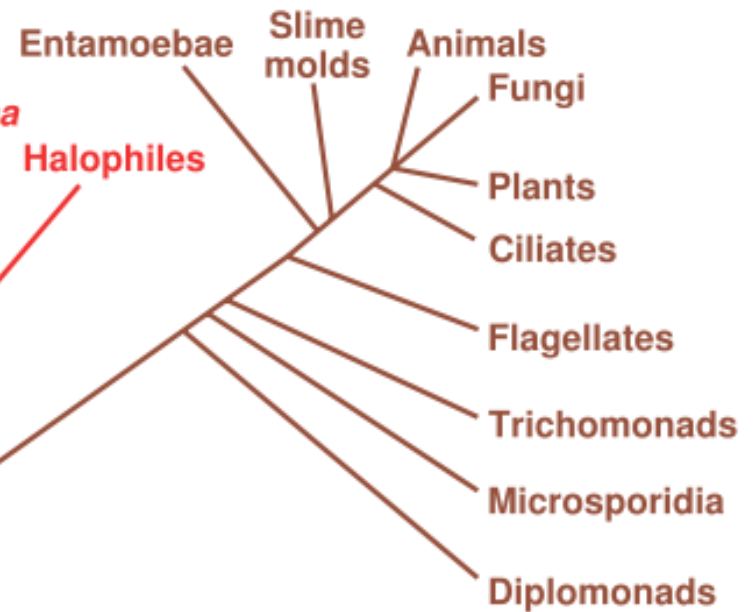
Bacteria



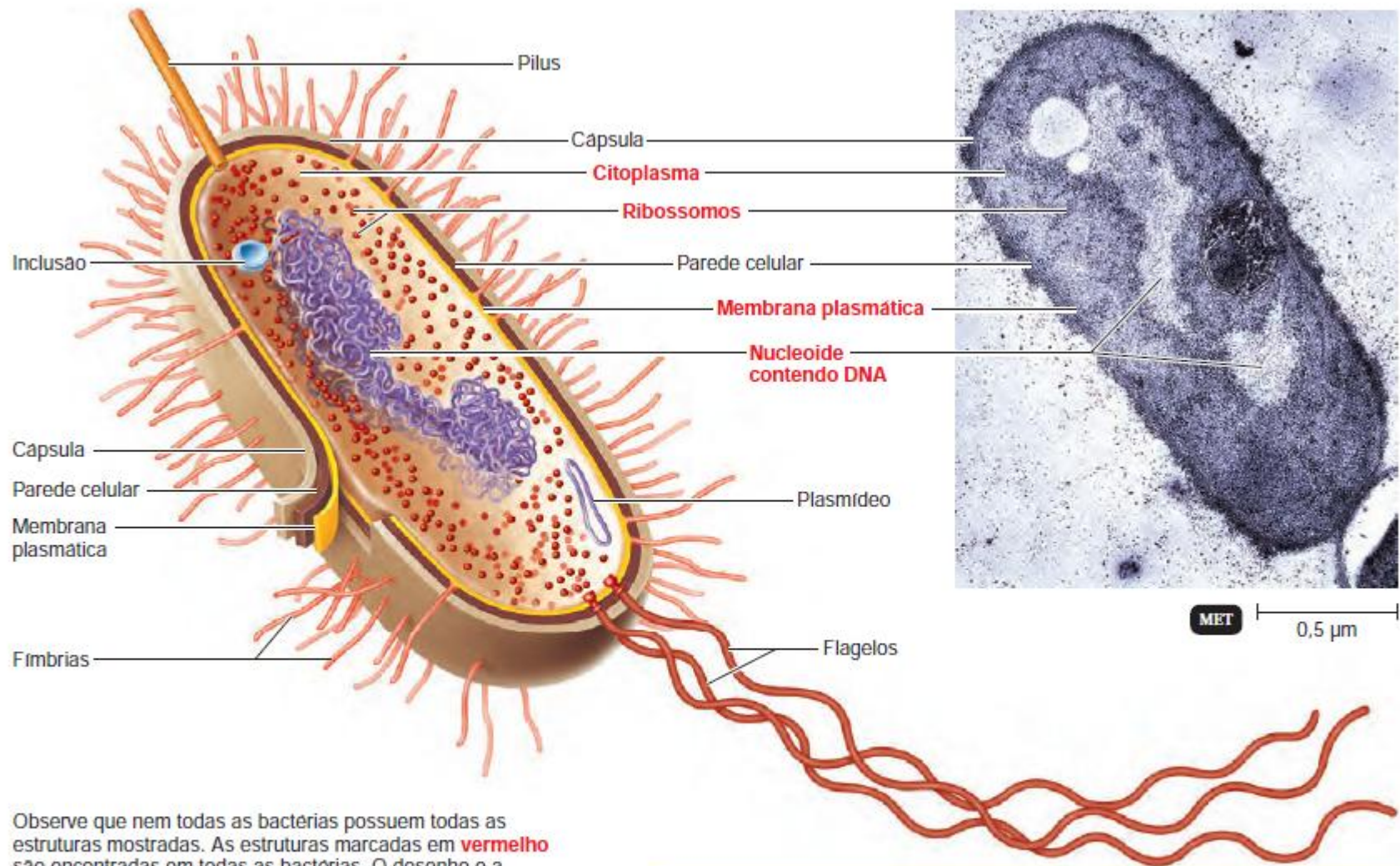
Archaea



Eucaryota



A célula bacteriana



Observe que nem todas as bactérias possuem todas as estruturas mostradas. As estruturas marcadas em **vermelho** são encontradas em todas as bactérias. O desenho e a micrografia mostram a bactéria seccionada transversalmente para revelar a composição interna.

Conceito-chave

As células procarióticas não possuem organelas envolvidas por membrana. Todas as bactérias possuem citoplasmas, ribossomos, uma membrana plasmática e um nucleoide. A maioria das bactérias possui paredes celulares.

Morfologia Bacteriana

As bactérias de importância médica são caracterizadas morfolologicamente por:

Tamanho

Forma

Arranjo

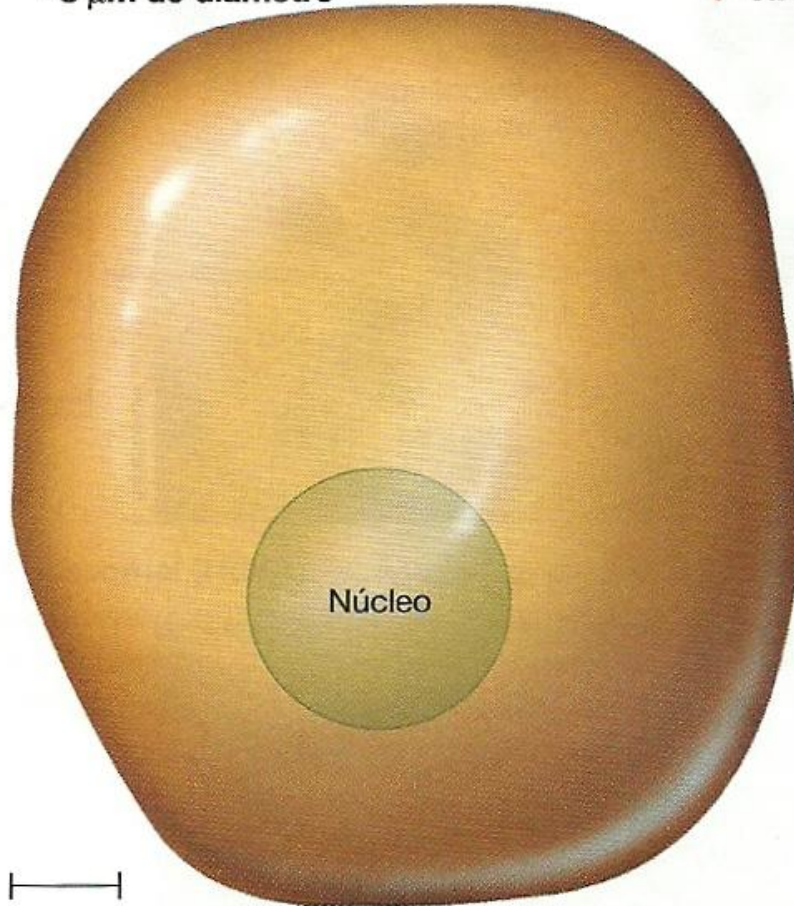
Tamanho

Célula de levedura (*Eukarya*)
~8 μm de diâmetro

• Vírus



Células de
Escherichia coli (*Bacteria*)
~1 x 3 μm



1.000 nm (1 μm)

(c)

- Variam de 0,3 por 0,8 μm até 10 por 25 μm .
- As espécies de maior interesse médico medem entre 0,5 a 1,0 μm por 2 a 5 μm .

Forma

- **Esférica: Cocos**

Grupo homogêneo em relação ao tamanho, sendo células menores (0,8 a 1,0 μm).

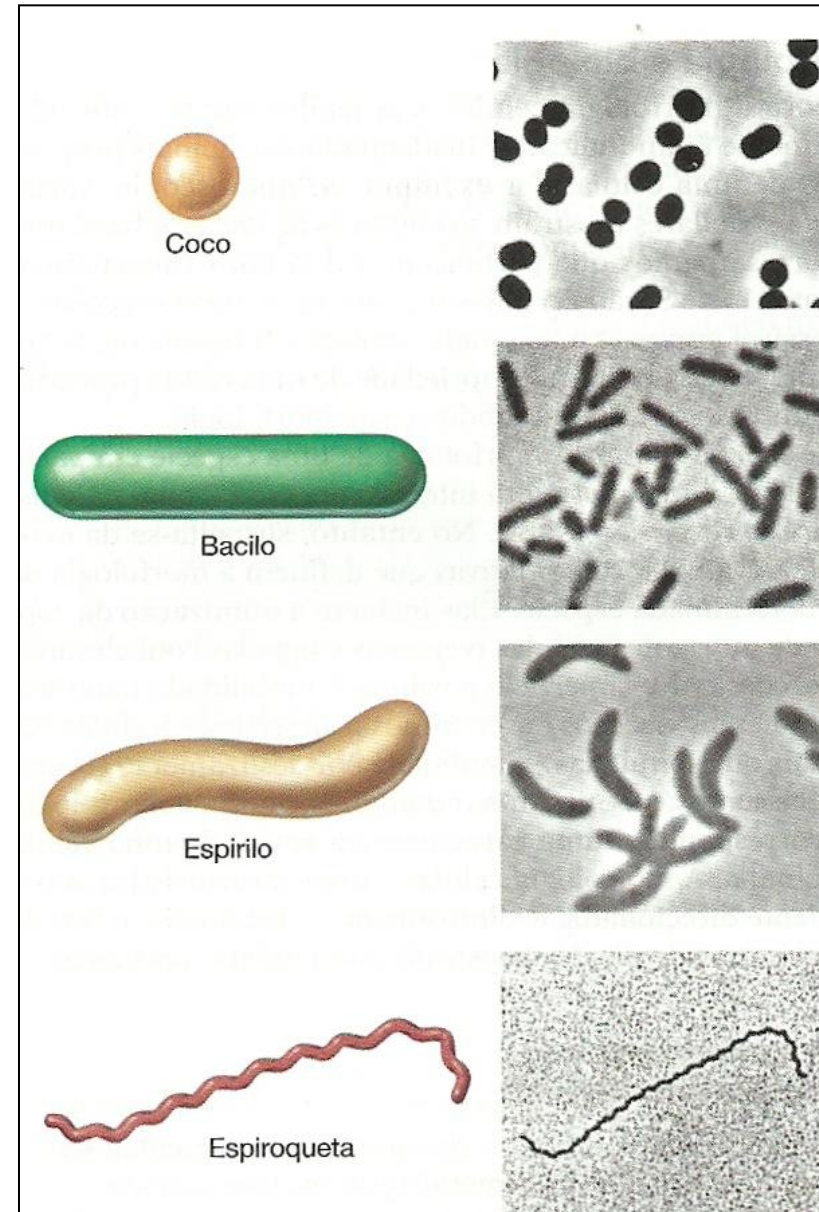
- **Cilíndrica: Bacilos**

Forma de bastão, podendo ser longos ou delgados, pequenos ou grossos, extremidade reta, ou arredondada.

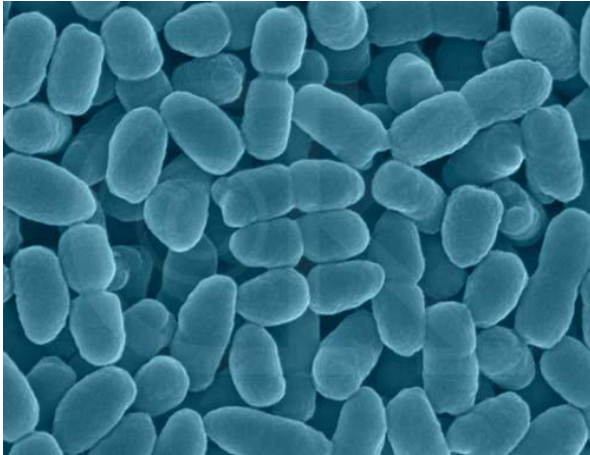
- **Espiralada**

=>**Espirilos**: possuem corpo rígido e se movem às custas de flagelos externos.

=>**Espiroquetas**: são flexíveis e locomovem-se provavelmente às custas de contrações do citoplasma

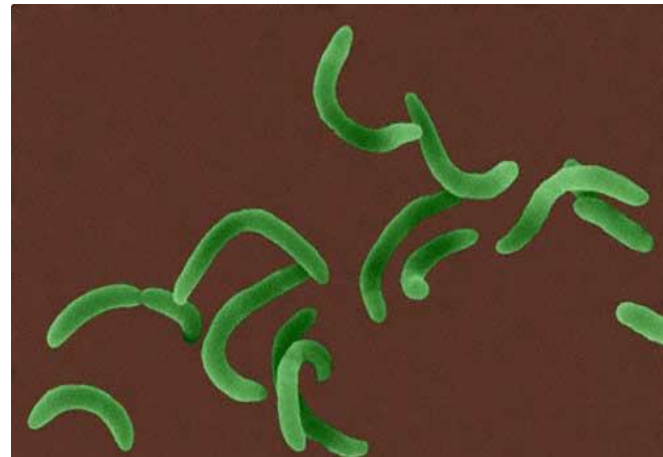


Formas de transição



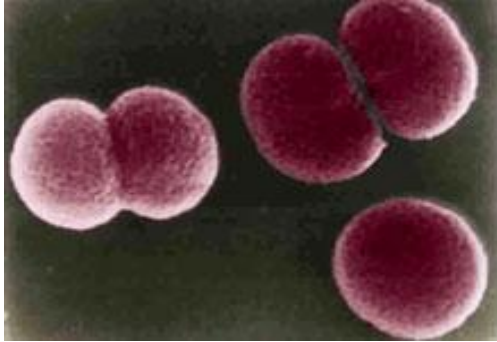
Cocobacilos: bacilos muito curtos.
Ex.: *Prevotella*

Vibriões: espirilos muito curtos, assumindo formas de vírgula.
Ex.: *Vibrio cholerae*

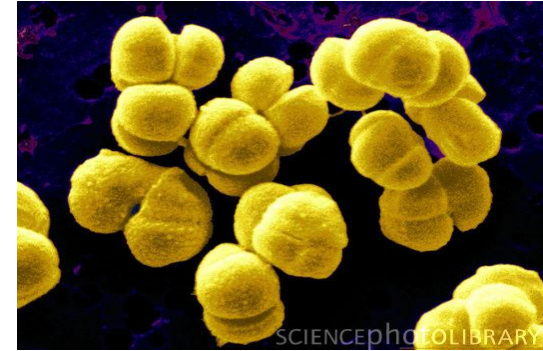


Arranjo

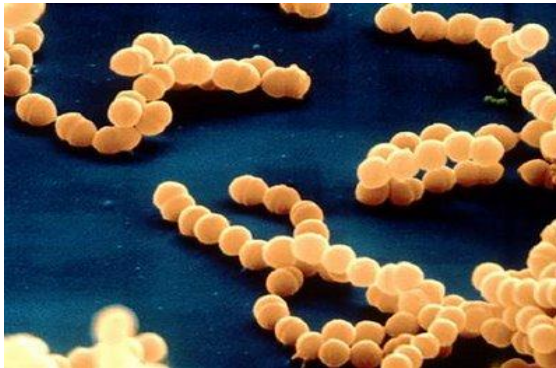
Cocos



Diplococos: cocos agrupados aos pares. Ex: *Neisseria*



Tétrades: agrupados de 4 cocos
Sarcina: 8 cocos em forma cúbica



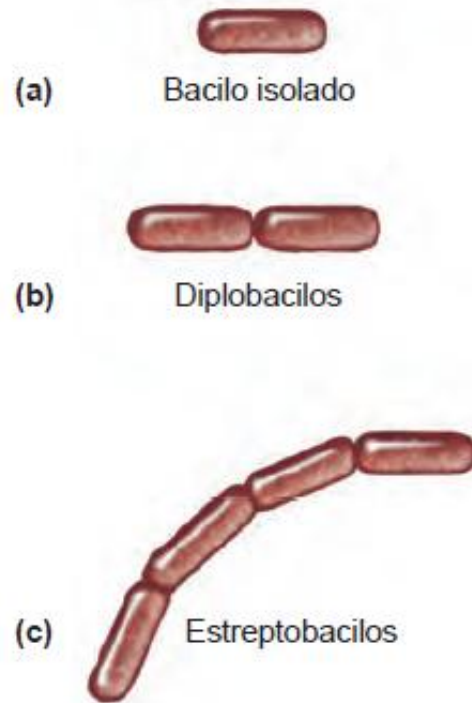
Estreptococos: cocos agrupados em cadeia. Ex: *Streptococcus*



Estafilococos: cocos em arranjos irregulares. Ex: *Staphylococcus*

Arranjo

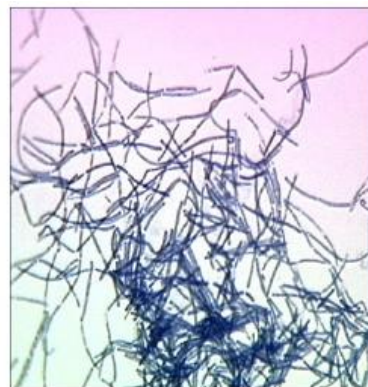
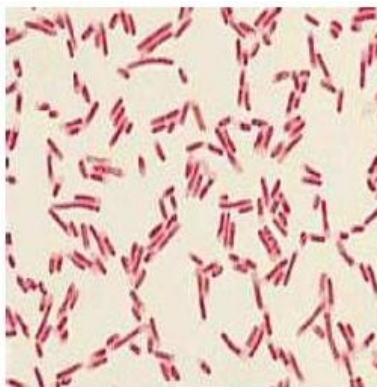
Bacilos



MEV | 2 μ m

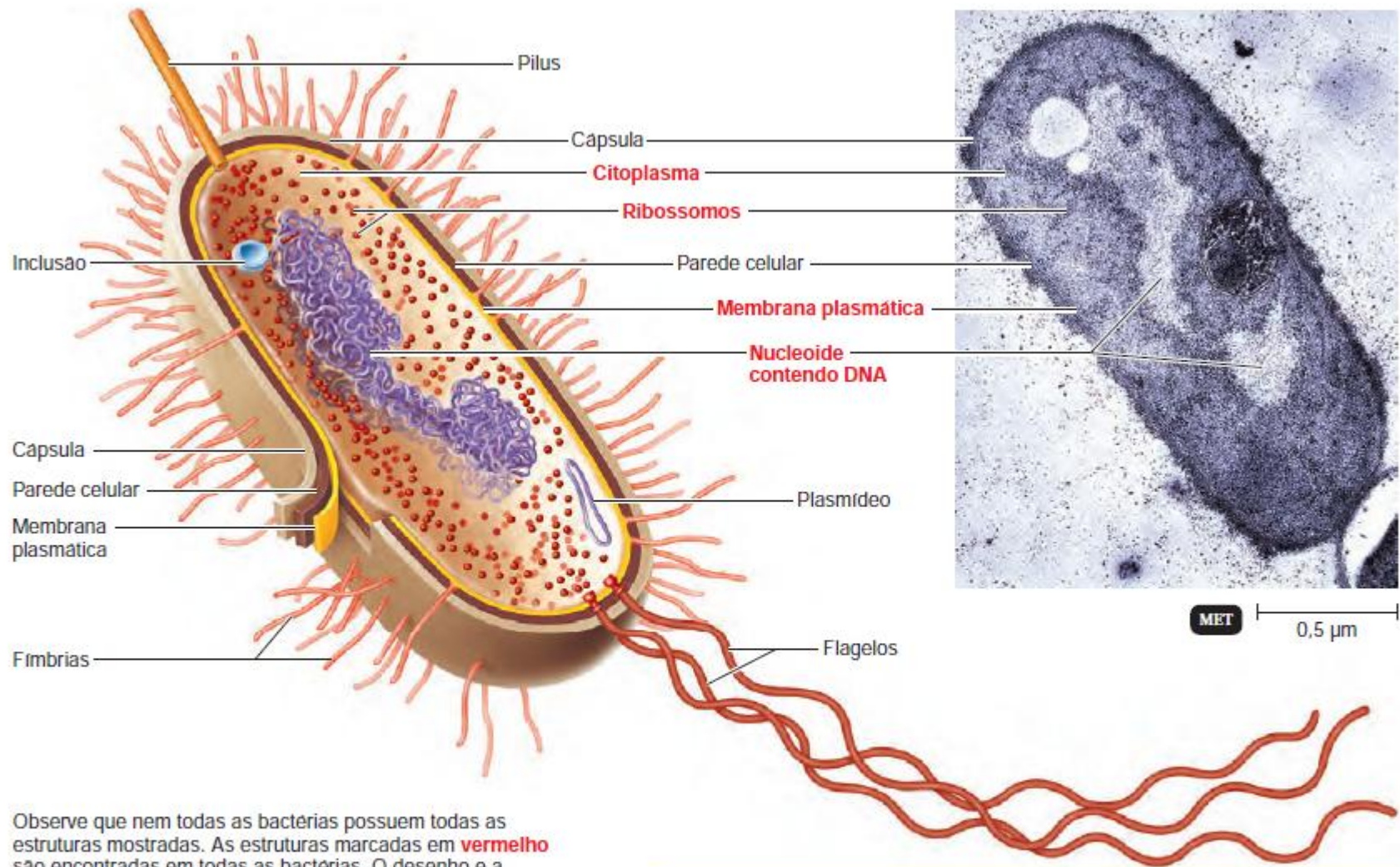


MEV | 5 μ m



(d) Paliçada: agrupados lado a lado

A célula bacteriana



Observe que nem todas as bactérias possuem todas as estruturas mostradas. As estruturas marcadas em **vermelho** são encontradas em todas as bactérias. O desenho e a micrografia mostram a bactéria seccionada transversalmente para revelar a composição interna.

Conceito-chave

As células procarióticas não possuem organelas envolvidas por membrana. Todas as bactérias possuem citoplasmas, ribossomos, uma membrana plasmática e um nucleoide. A maioria das bactérias possui paredes celulares.

Flagelos

- Locomoção: movimento rotatório
- Formam longos filamentos que partem do corpo da bactéria e se estendem externamente à parede celular.
- Ancorado na superfície da célula
- Proteína flagelina

Flagelos



(a) Peritríqueo

MEV 0,5 μ m



(b) Monotríqueo e polar

MEV 0,5 μ m



(c) Lofotríqueo e polar

MEV 0,5 μ m



(d) Anfotríqueo e polar

MEV 5 μ m

Figura 4.7 Arranjos de flagelos bacterianos. (a) Peritríqueo. (b) – (d) Polar.

Fímbrias/pili

- Natureza protéica (pilina)
- Mais curtos que os flagelos
- Aderência

Fímbria ou Pili F – transferência de material genético durante a conjugação

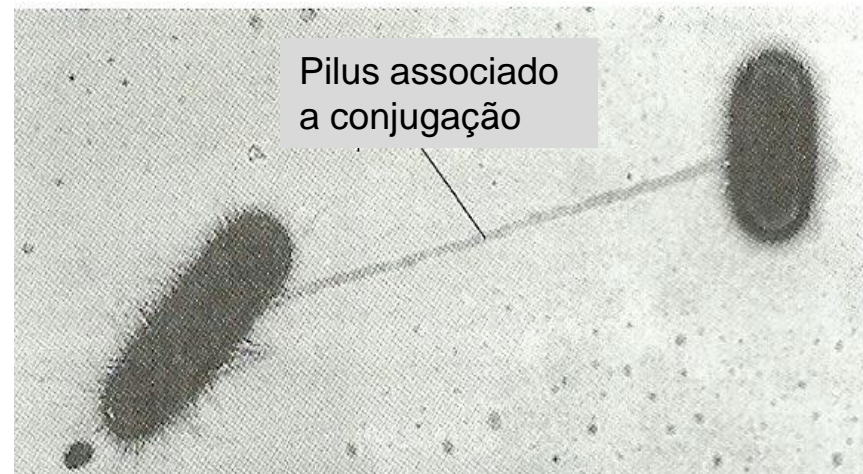


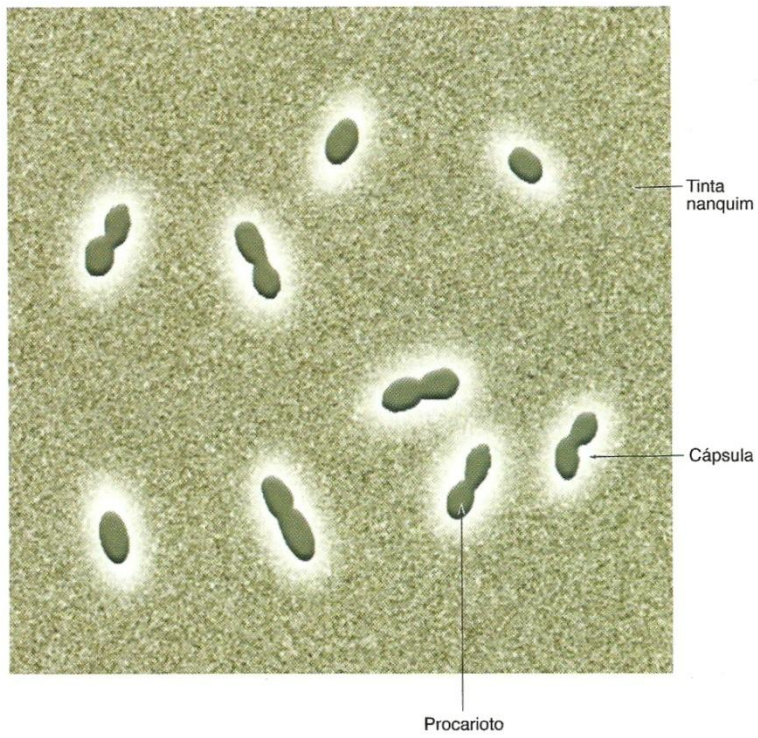
Figura 4.11 Fímbrias. As fímbrias parecem pelos nesta célula de *E. coli*, que está começando a se dividir.

Cápsula

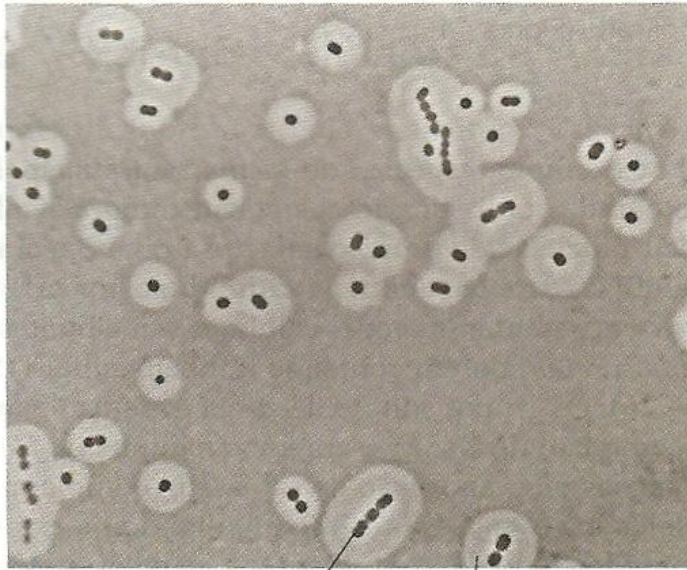
Polímero viscoso e gelatinoso situado externamente à parede celular, composto de polissacarídeo e/ou polipeptídeo.

- Proteção da célula bacteriana contra desidratação.
- Aderência – auxiliam na ligação da bactéria à superfícies bióticas ou abióticas.
- Proteção - resistência à fagocitose pelas células de defesa do corpo (fator de virulência).
=> bactérias encapsuladas são mais VIRULENTAS do que as não encapsuladas.

Cápsula



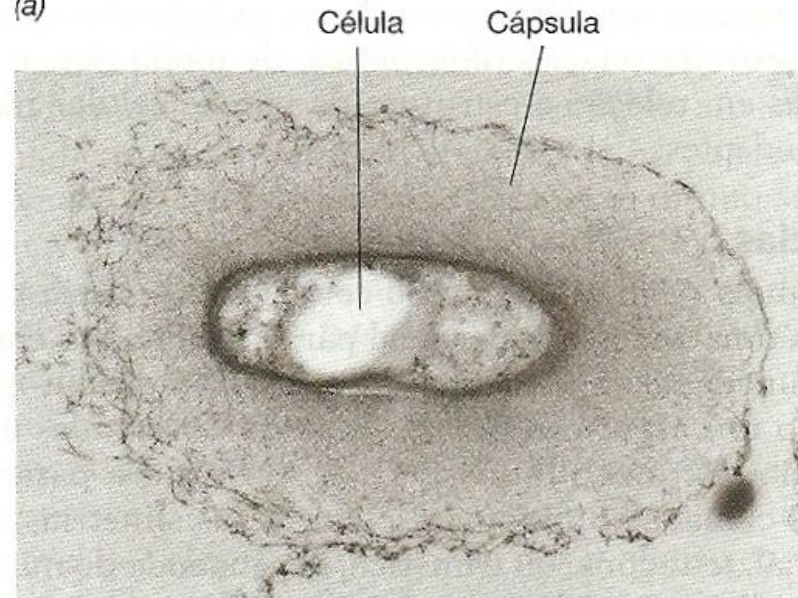
(a)



(a)

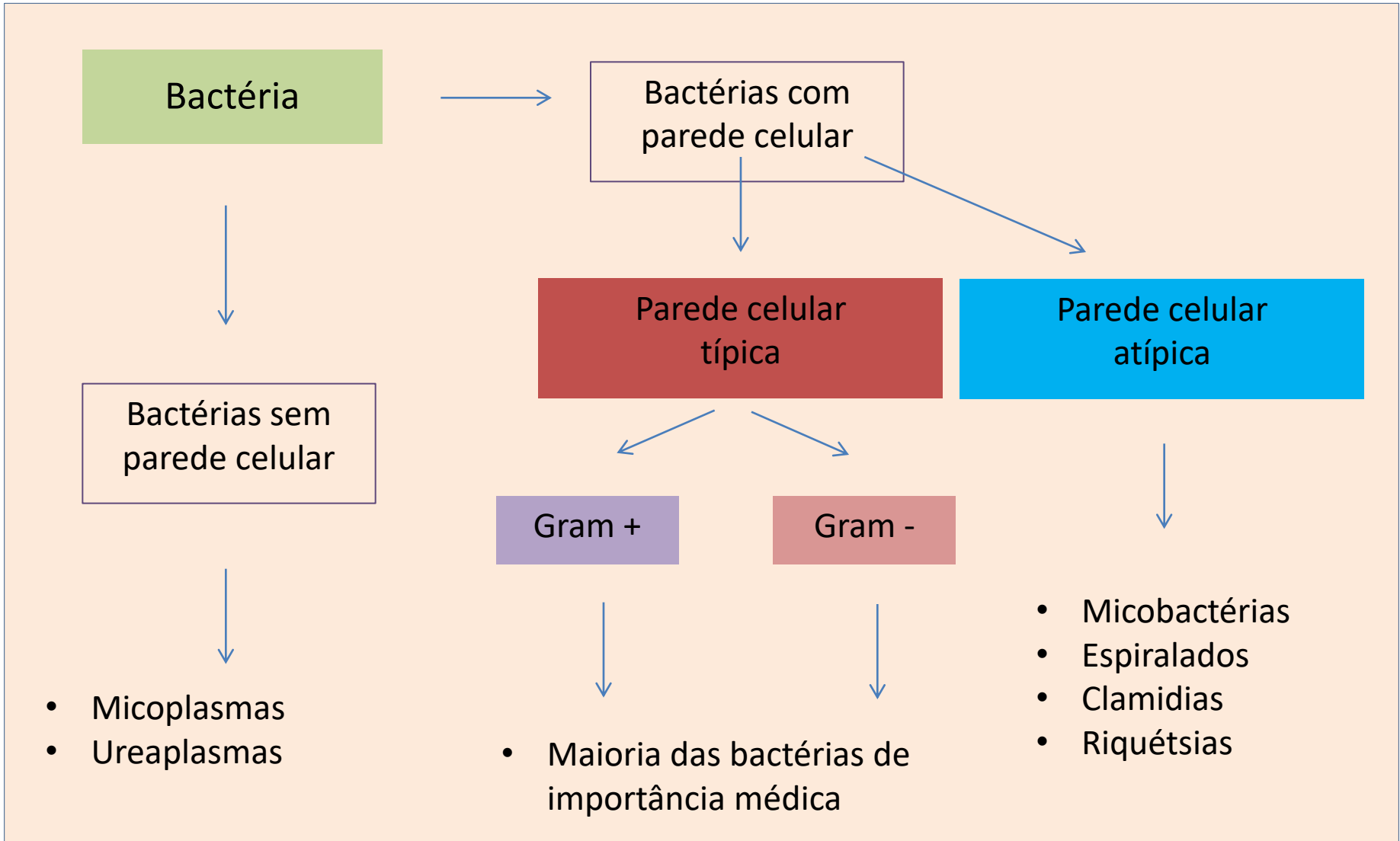
Célula

Cápsula



(b)

Parede celular



Parede celular

- ❑ Confere rigidez estrutural à célula.
- ❑ Proteção contra lise osmótica.
- ❑ Sítio receptor para proteínas e outras moléculas.
- ❑ Constituída de peptidoglicano

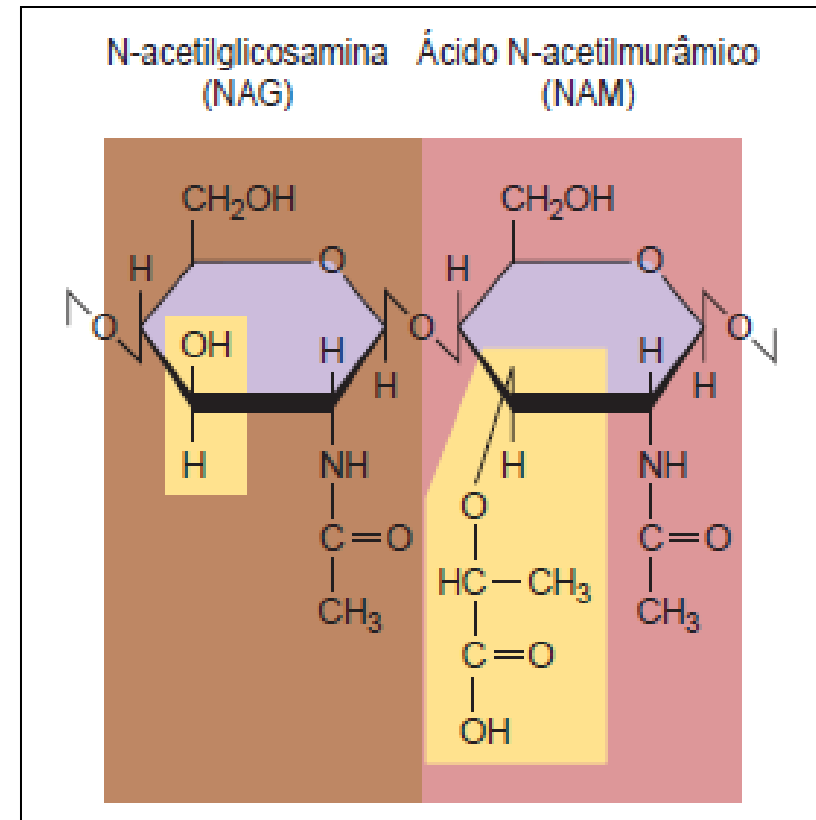
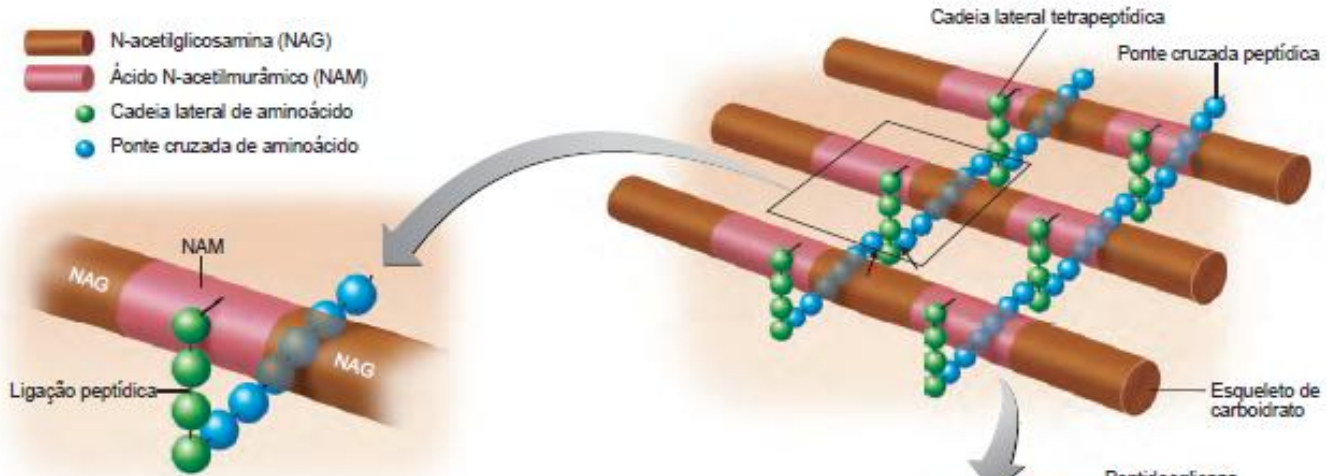
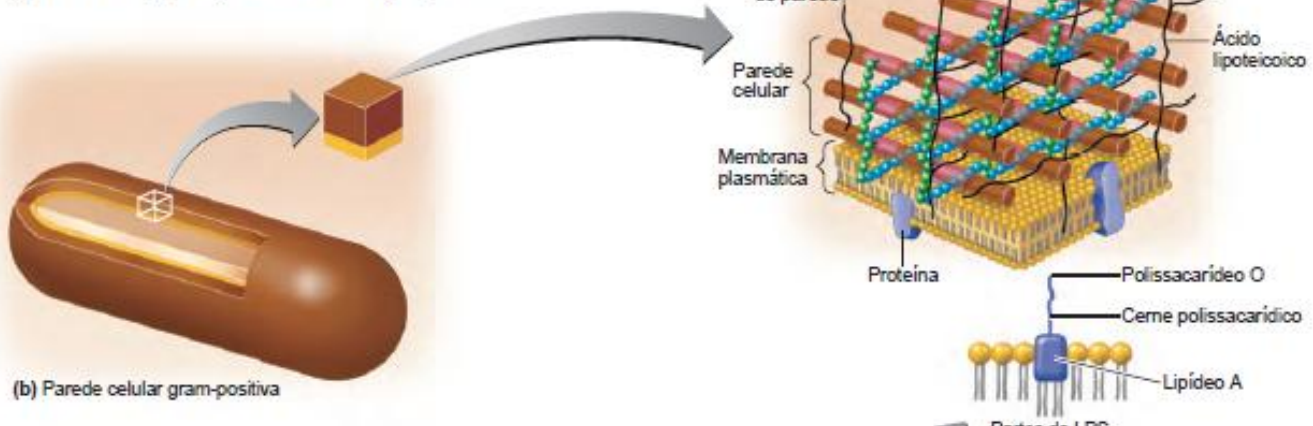


Figura 4.12 N-acetilglicosamina (NAG) e ácido N-acetilmurâmico (NAM) unidos como na peptidoglicano. As áreas douradas mostram as diferenças entre as duas moléculas. A ligação entre elas é denominada ligação β-1,4.

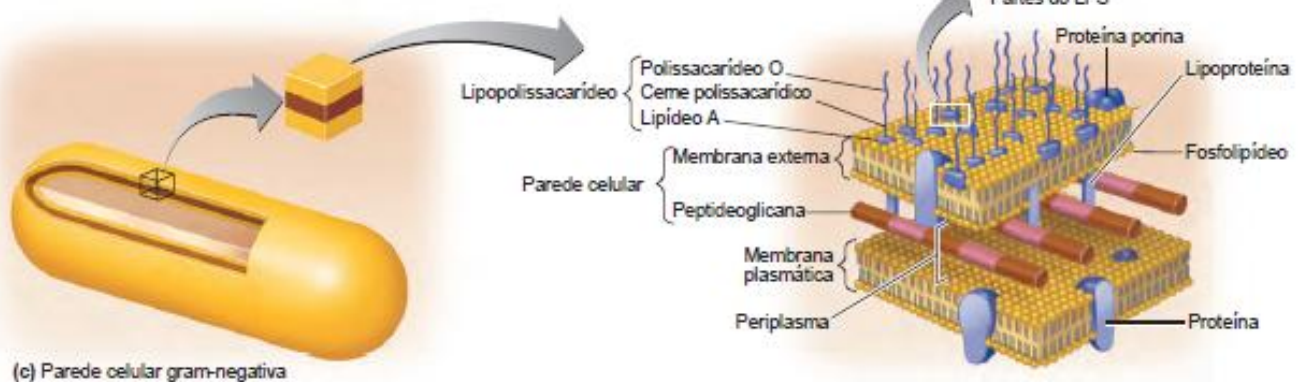
Parede celular



(a) Estrutura de peptidoglicana em bactéria gram-positiva



(b) Parede celular gram-positiva

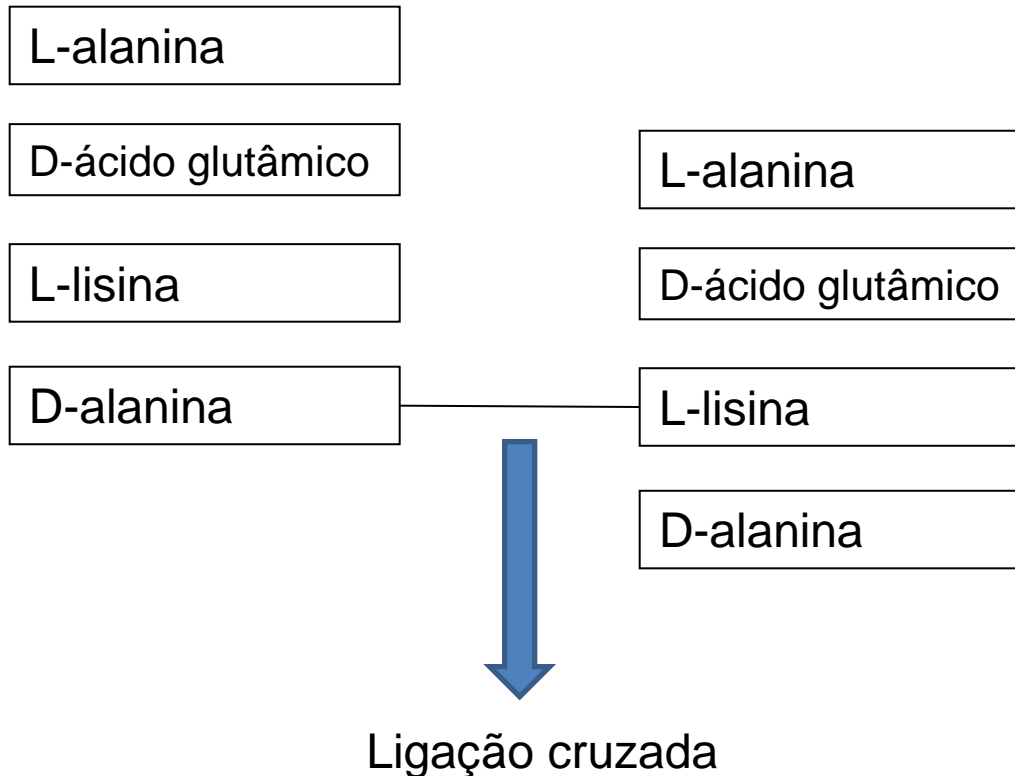


(c) Parede celular gram-negativa

Composição do tetrapeptídeo

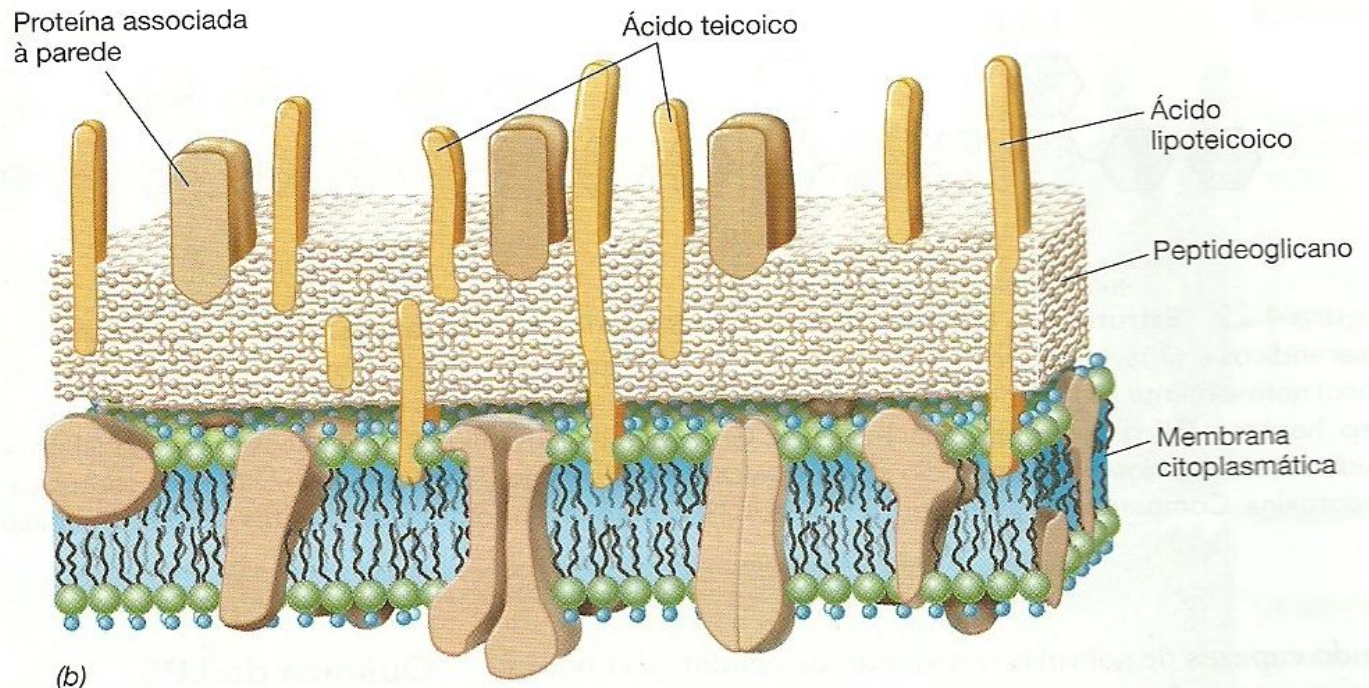
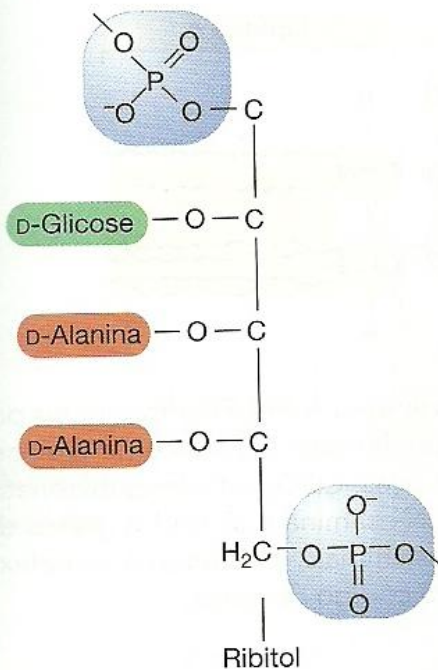
Contém L e D aminoácidos, sempre ligado ao NAM.

Ligações cruzadas entre o COOH terminal do aminoácido de um tetrapeptídeo e o grupo NH₂ do aminoácido do tetrapeptídeo vizinho.



Parede celular de Gram positiva

- ❑ Várias camadas de peptidoglicano (cerca de 90% da parede)
- ❑ Ácido teicoico (polissacarídeo ácido com resíduo de glicerol fosfato ou ribitol fosfato).



(a)

(b)

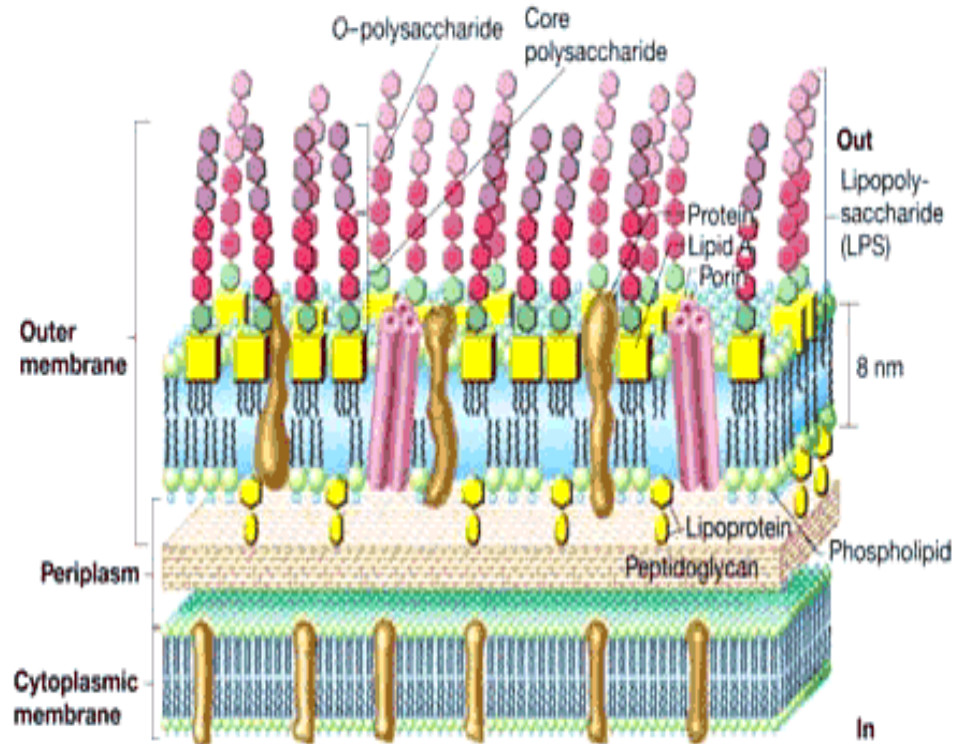
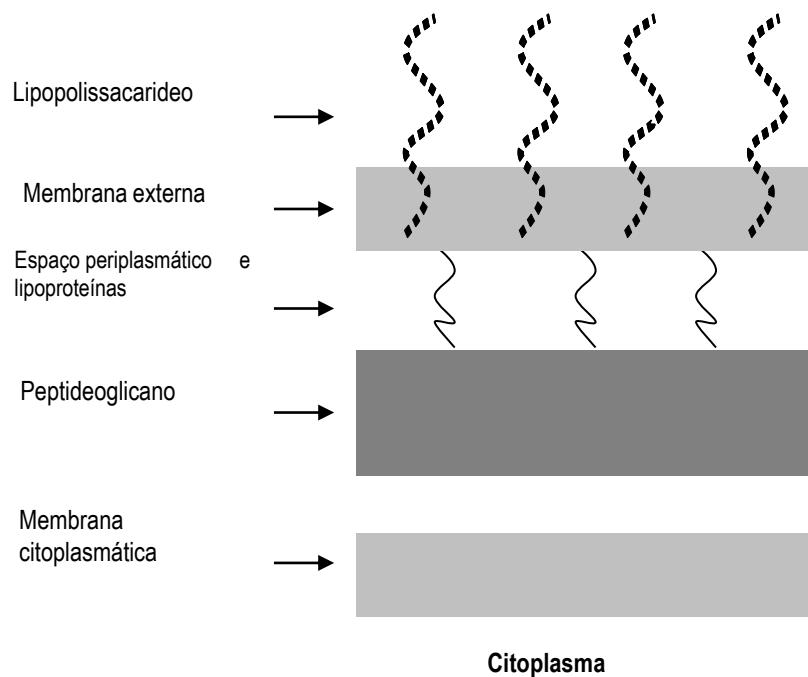
Parede celular de Gram negativa

- Poucas camadas de peptidoglicano (cerca de 10%)

- Membrana externa
 - Lipopolissacarídeo (LPS)
 - Proteínas: porinas, lipoproteínas

- Espaço periplasmático – entre a membrana externa e membrana citoplasmática

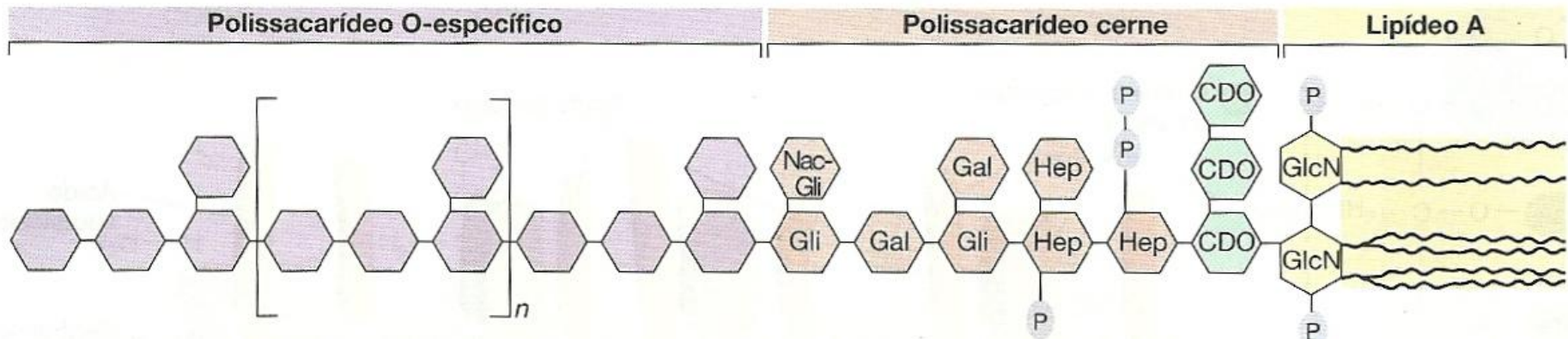
Parede celular de Gram negativa



- Internamente => camada de fosfolipídeos e lipoproteína, ancorada ao peptidoglicano.
- Externamente => lipopolissacarídeo (LPS)

Estrutura do LPS

3 componentes ligados covalentemente: lipídeo A, polissacarídeo cerne e polissacarídeo O.

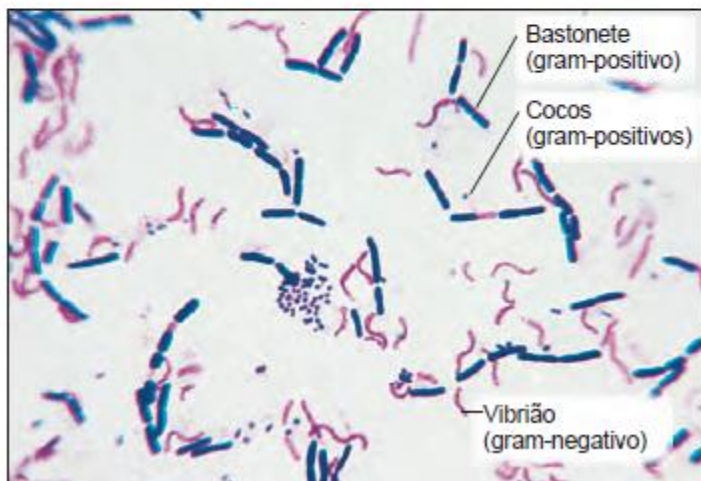
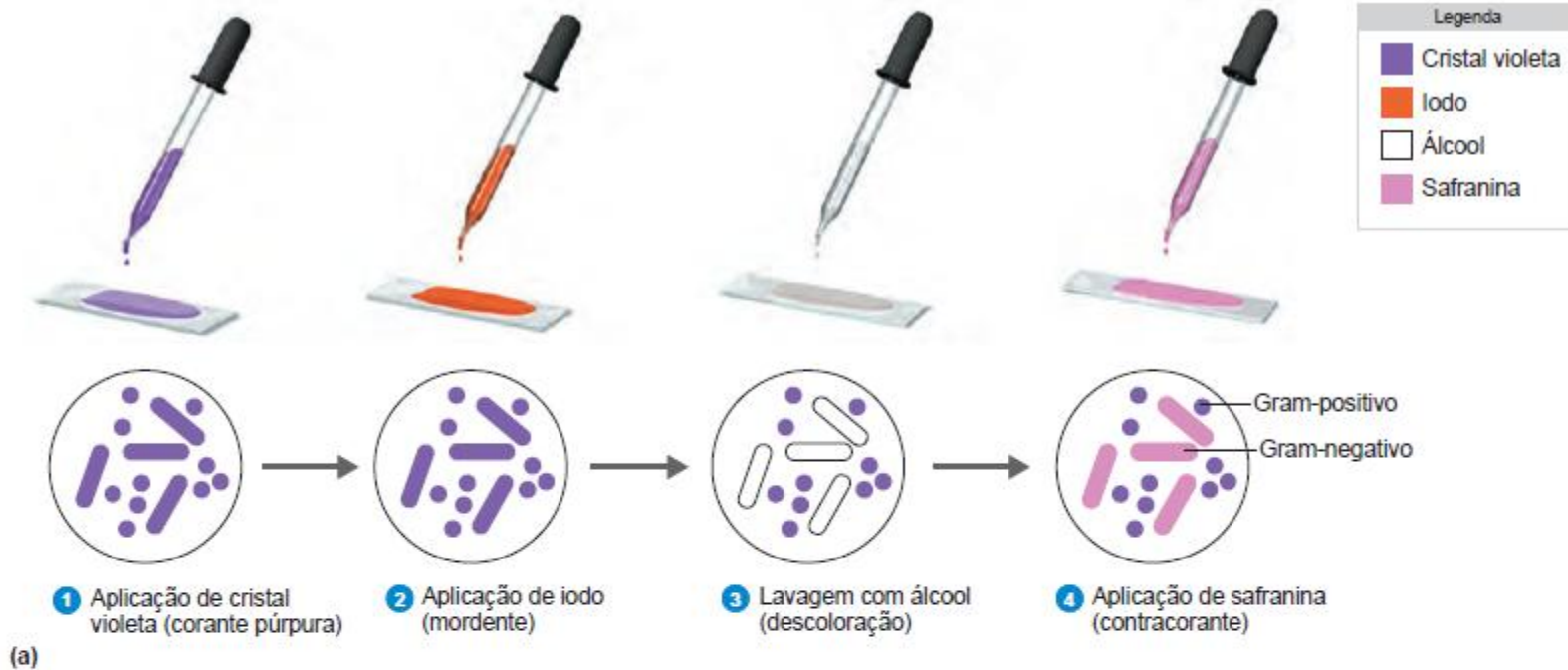


ENDOTOXINA



Diarreia, vômitos, febre e choque potencialmente fatal

Coloração de Gram

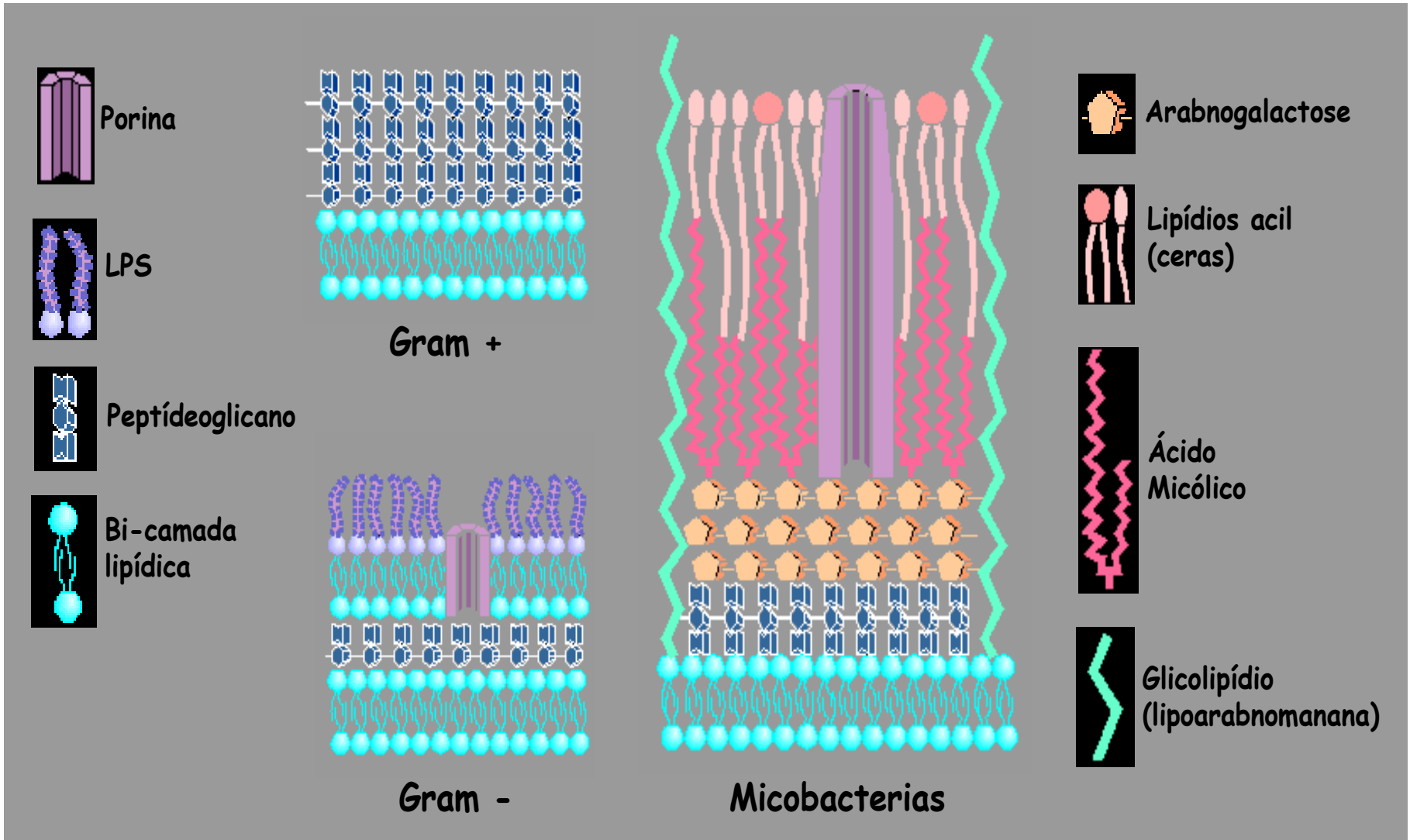


(b)

MO 5 µm

Figura 3.12 Coloração de Gram. (a) Procedimento. (b) Micrografia de bactérias coradas pelo Gram. Os bastonetes e os cocos (roxo) são gram-positivos, e os vibriões (rosa) são gram-negativos.

Pared celular atípica



Pared celular de *Mycobacterium*

Coloração álcool-ácido resistente

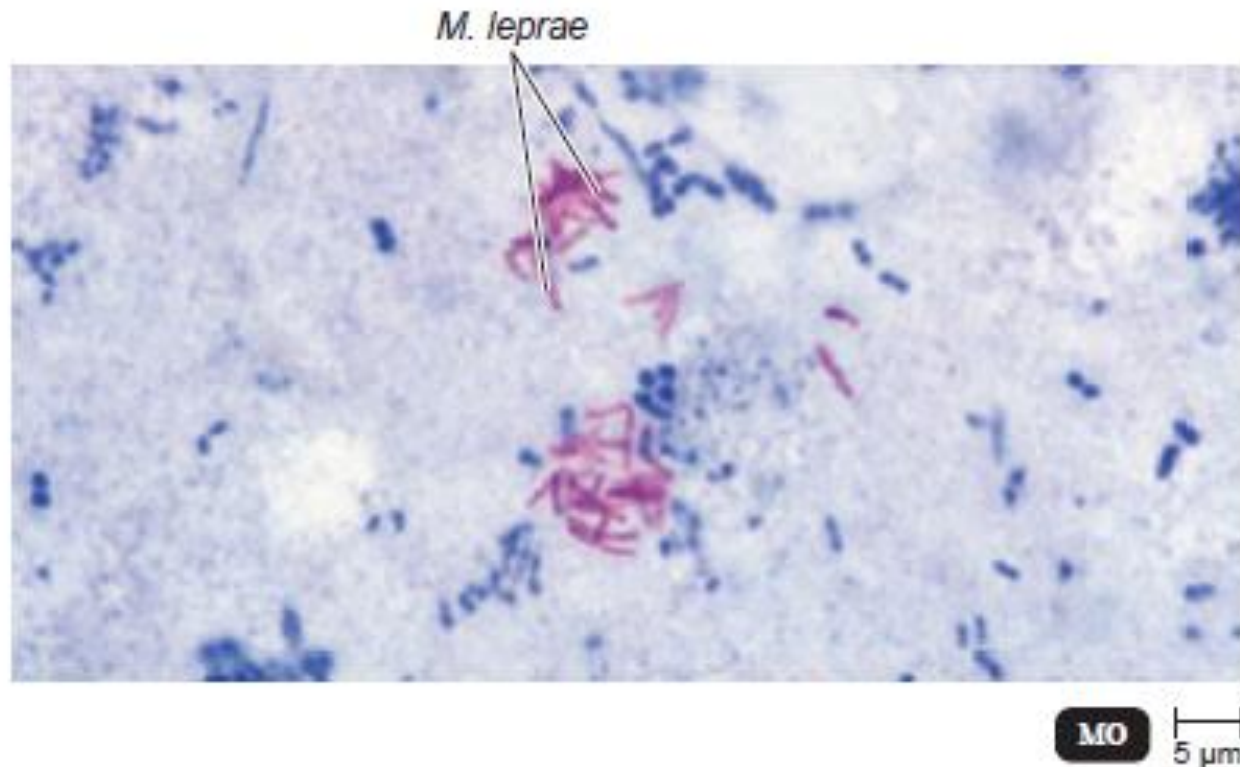


Figura 3.13 Bactérias álcool-ácido resistentes (BAAR). As bactérias *Mycobacterium leprae* que infectaram este tecido foram coradas de vermelho com uma coloração álcool-ácido. As células que não são álcool-ácido resistentes estão coradas com o contracorante azul de metileno.

Membrana citoplasmática

Estruturas internas à parede celular

☐ Estrutura fina (8 nm) e fluida

☐ Composição química

proteínas + bicamada lipídica



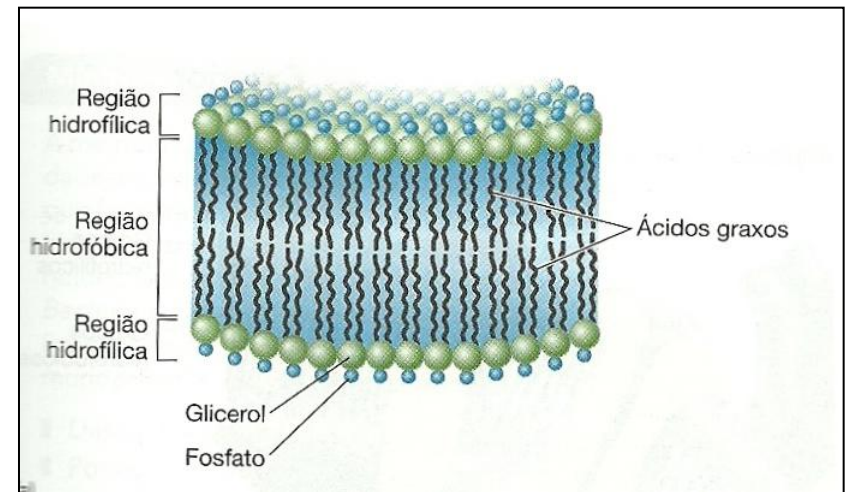
Total ou parcialmente imersas na bicamada



Fosfolipídeos



Ácidos graxos Glicerol fosfato
Comp. hidrofóbicos hidrofílicos

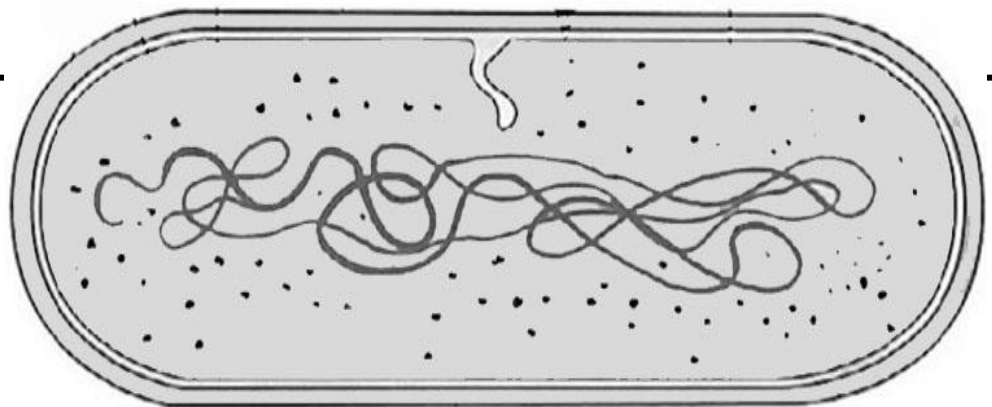


Membrana citoplasmática

Funções:

- Barreira de permeabilidade da célula que separa o citoplasma do ambiente
- Transporte de substâncias
- Processos de obtenção de energia: respiração =>

MESOSSOMOS



Componentes citoplasmáticos

Citoplasma

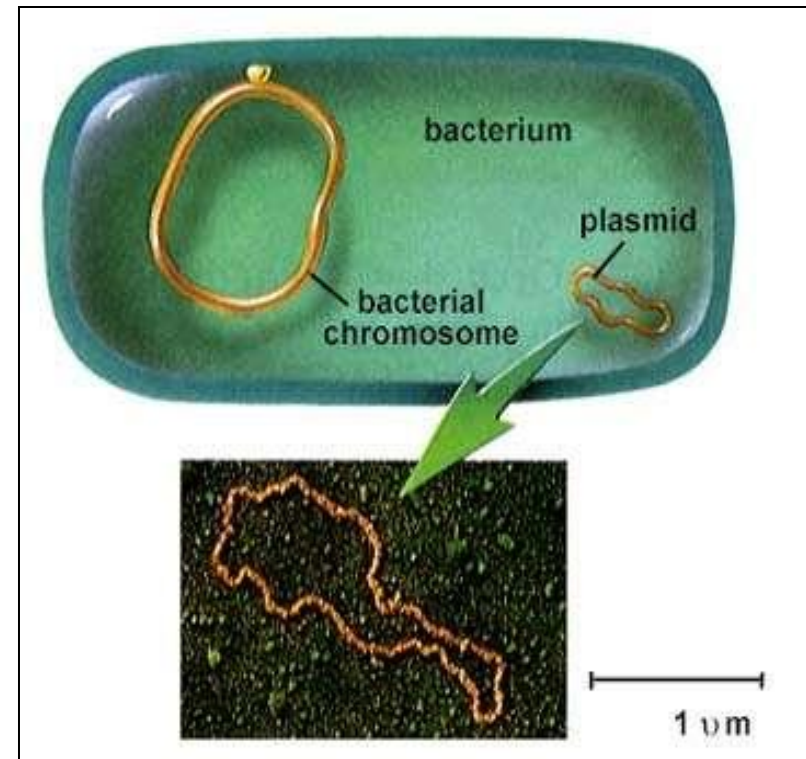
Água, compostos de baixo peso molecular, macromoléculas, íons inorgânicos.
Sítio de reações químicas

Nucleóide

Cromossomo bacteriano, DNA circular, dupla hélice, contém informações necessárias à sobrevivência da célula, capacidade de replicação

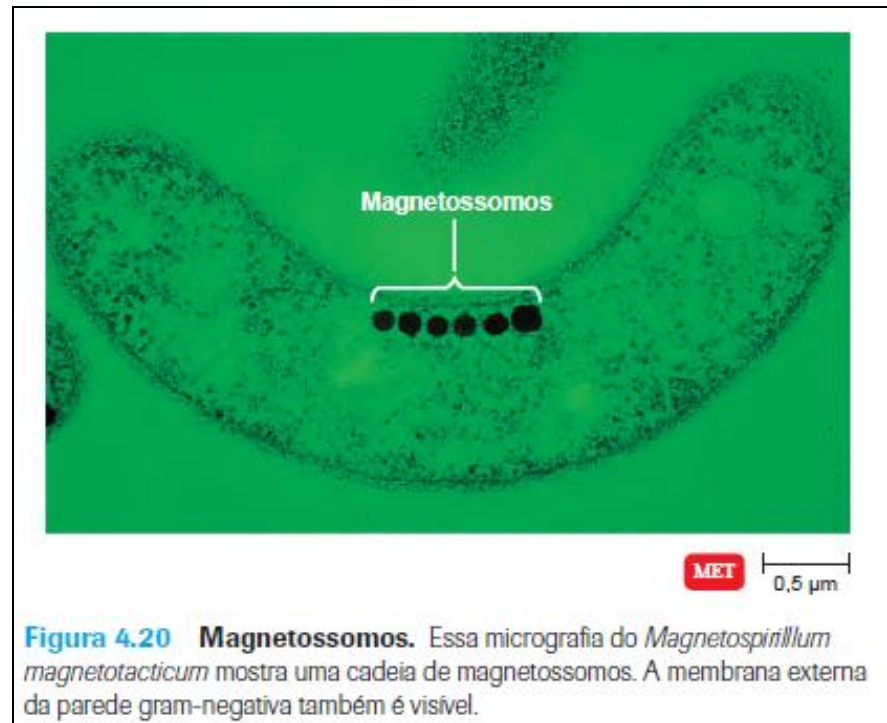
Plasmídeos

Moléculas de DNA, circular
Menores que cromossomo, também
podem se replicar
Genes não essenciais mas podem
conferir vantagens seletivas



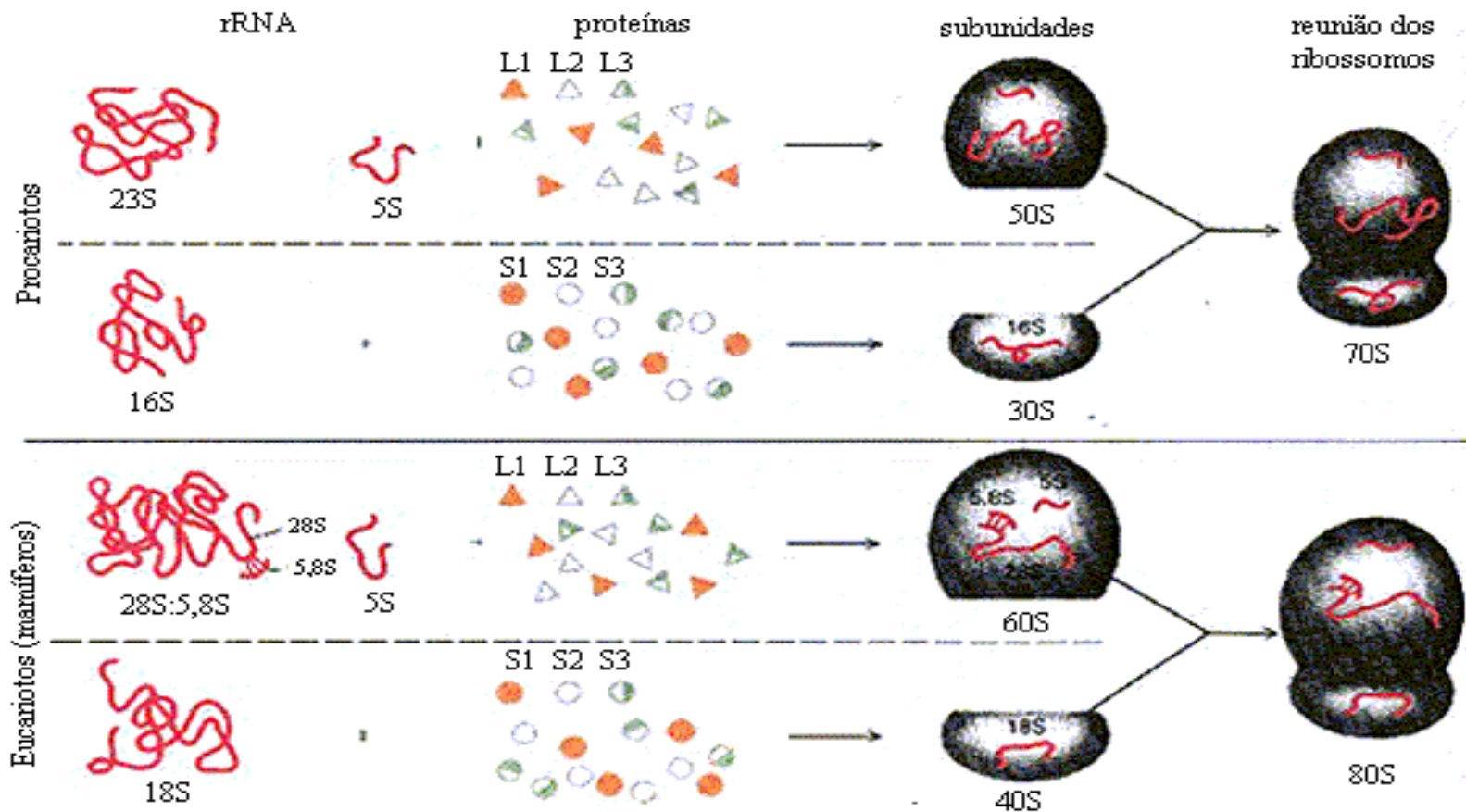
Grânulos de reserva ou inclusões

Grânulos de glicogênio, amido, lipídeos,
polifosfato, óxido de ferro
(magnetossomos)



Ribossomos

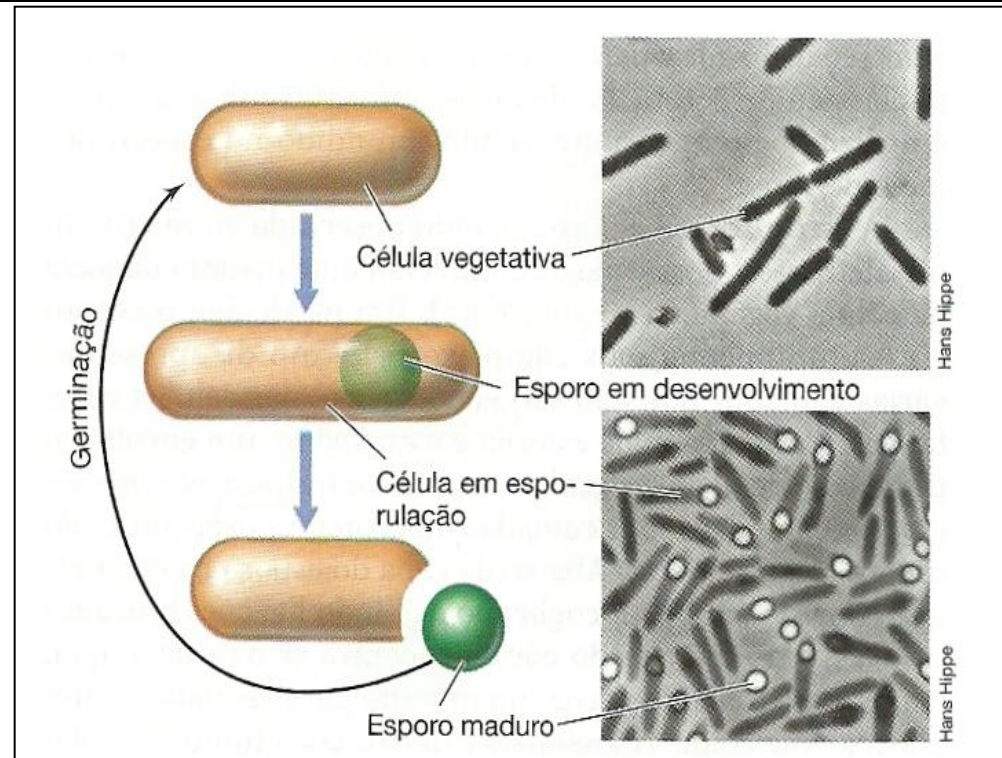
Síntese proteica



Esporos Bacterianos - Endósporos

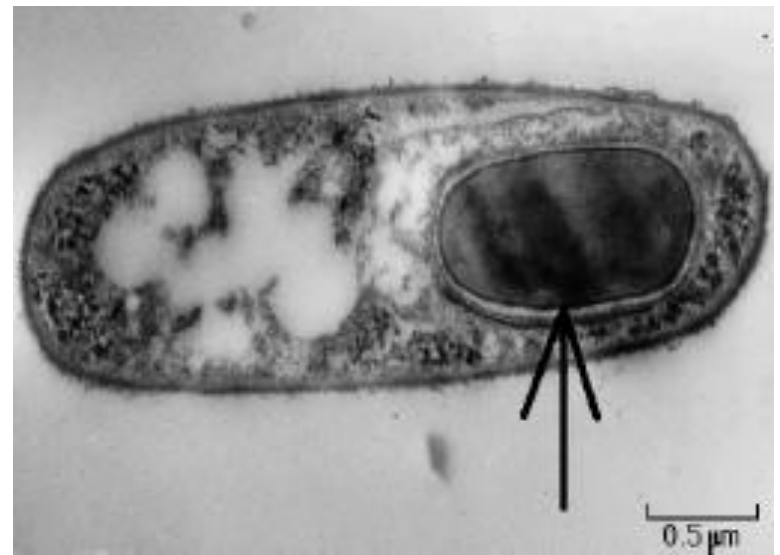
- Estruturas altamente diferenciadas e possuem pouca quantidade de água.
- Atuam como estrutura de sobrevivência - condições ambientais desfavoráveis.

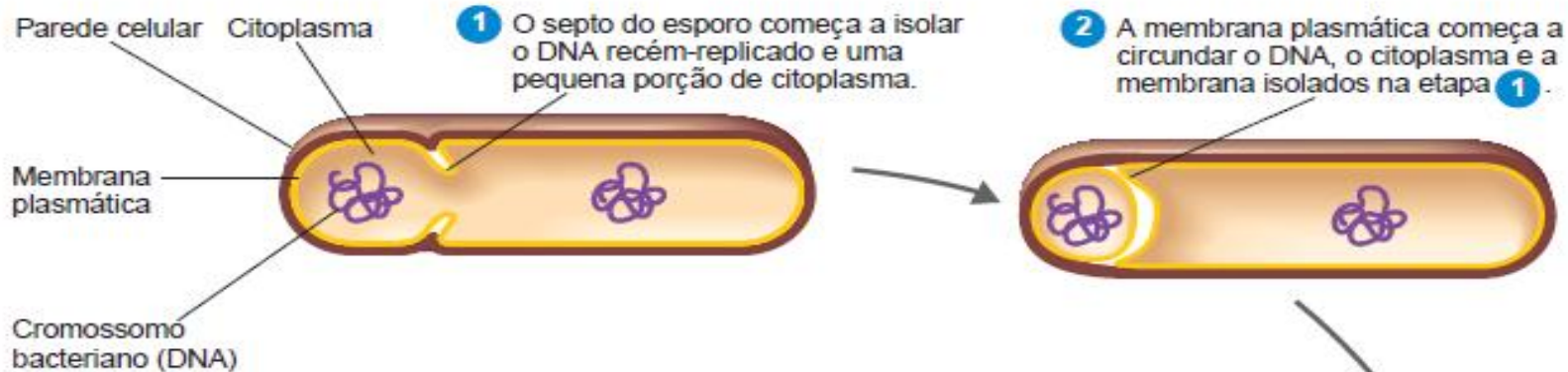
Ciclo de vida de uma bactéria formadora de endósporos.



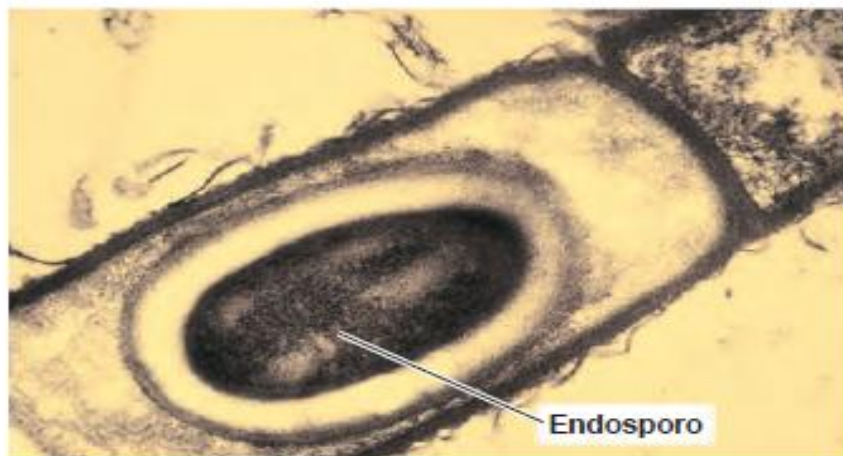
Esporos Bacterianos - Endósporos

- ❑ Algumas bactérias Gram positivas (*Bacillus* e *Clostridium*)
- ❑ Resistentes ao calor, desidratação, valores extremos de pH, radiação
- ❑ Baixa atividade metabólica
- ❑ Forma de sobrevivência e não de reprodução





(a) Esporulação, o processo de formação do endosporo.



(b) Um endosporo no *Bacillus anthracis*.

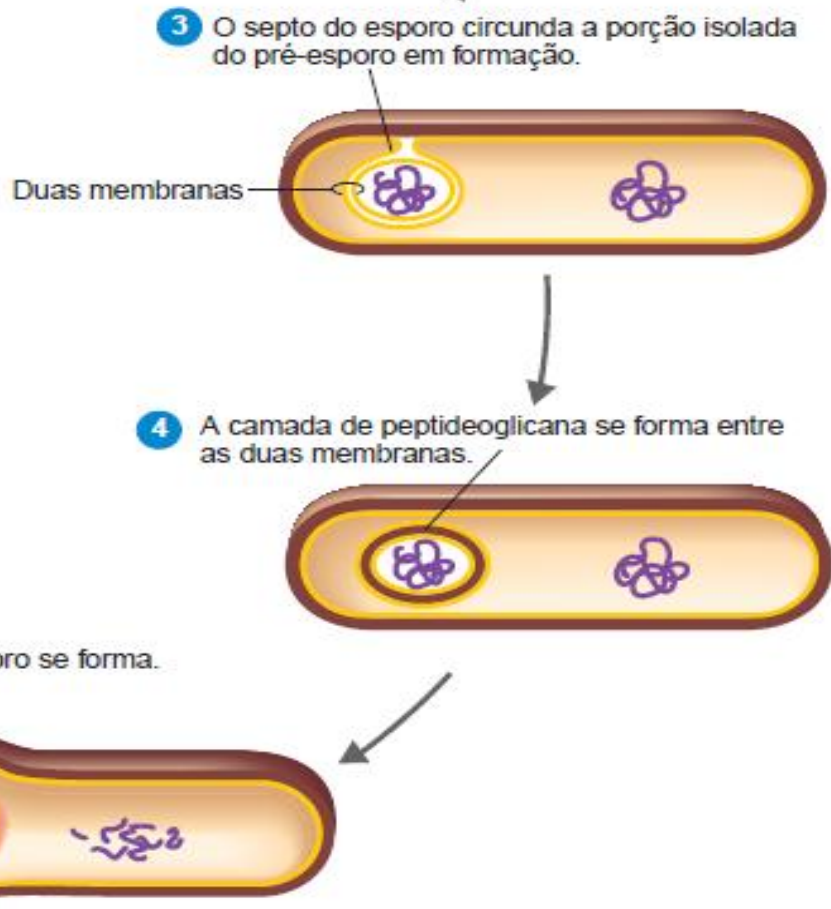


Figura 4.21 Formação do endosporo por esporulação.