

# 1 Microrganismos e microbiologia

## microbiologia **hoje**

### A vida microbiana está presente em todo lugar

Ao embarcar nesta jornada pelo mundo microbiano, você será surpreendido ao descobrir onde os microrganismos vivem na natureza. Em resumo, eles vivem em todo lugar, incluindo locais muito extremos até para a sobrevivência de macro-organismos. Por exemplo, uma equipe de pesquisa que estuda o Lago Vida, nos vales secos McMurdo da Antártida (foto superior), que é permanentemente coberto de gelo, descobriu vida bacteriana imersa em uma solução salina de subcongelamento a  $-13^{\circ}\text{C}$ ! Esses corajosos microrganismos foram descobertos por microbiologistas que usavam roupas protetoras, para prevenir contaminação durante o processo de perfuração (fotos inferiores).

As bactérias do Lago Vida, um grupo metabólico chamado de psicófilos (expressão que significa “amantes do frio”), demonstraram ser capazes de realizar várias reações metabólicas à temperatura ambiente do seu gélido hábitat natural. Genes específicos isolados de várias bactérias do Lago Vida foram utilizados para classificar os organismos, e estudos futuros de seus respectivos arcabouços genéticos – seus genomas – servirão de auxílio para desvendar os segredos genéticos que possibilitam a esses microrganismos prosperarem no frio constante.

O Lago Vida é incomum até mesmo para os demais lagos da Antártida, uma vez que a sua cobertura de gelo se estende por todo o caminho até a sua porção inferior. A luz do sol, disponível apenas durante seis meses por ano, não consegue penetrar profundamente no lago. Dessa forma, as bactérias do Lago Vida estão metabolizando e se multiplicando, ainda que de maneira extremamente lenta, por meio do carbono orgânico que ficou preso na camada de gelo no momento em que o lago foi selado, há milênios.

Os microbiologistas estudam bactérias de ambientes extremos a fim de desvendarem quais são os limites ambientais para a vida, e para procurar por produtos únicos que podem beneficiar os seres humanos e o planeta. Todavia, além de contribuir para os estudos de ciência básica e aplicada, as bactérias do Lago Vida são modelos para os tipos de formas de vida que poderiam habitar outros mundos gelados como Marte, ou a lua de Júpiter, Europa.

Murray AE, *et al.* 2012. Microbial life at  $-13^{\circ}\text{C}$  in the brine of an ice-sealed Antarctic lake. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 109: 20626–20631.



- I **Introdução e temas principais da microbiologia 2**
- II **A microbiologia no contexto histórico 13**

## I • Introdução e temas principais da microbiologia

### 1.1 Do que trata a microbiologia e por que ela é importante?

A ciência da microbiologia é inteiramente destinada ao estudo dos **microrganismos** e do modo como eles funcionam, especialmente as bactérias, um grupo extenso de células muito pequenas (**Figura 1.1**) que possuem grande importância básica e prática. A microbiologia também trata da diversidade e evolução das células microbianas, abrangendo o porquê e como os diferentes tipos de microrganismos surgiram. A microbiologia compreende ainda a ecologia, por isso também trata do local onde os microrganismos vivem na Terra, como eles se associam e cooperam uns com os outros, e o que eles fazem no mundo em geral, no solo, na água, em animais e plantas.

A ciência da microbiologia gira em torno de dois temas que estão interconectados: (1) o entendimento da natureza e funcionamento do mundo microbiano, e (2) a aplicação do nosso entendimento acerca da microbiologia para benefício da humanidade e do planeta Terra. Como uma ciência biológica *básica*, a microbiologia utiliza células microbianas para analisar os processos fundamentais da vida. Os microbiologistas desenvolveram um conhecimento sofisticado sobre as bases química e física da vida, e descobriram que todas as células compartilham muitas características em comum. Como uma ciência biológica *aplicada*, a microbiologia está na linha de frente de vários avanços importantes na medicina humana e veterinária, agricultura e indústria. De doenças infecciosas, para a fertilidade do solo, até o combustível que você coloca no seu automóvel, os microrganismos afetam a vida cotidiana dos seres humanos tanto de forma benéfica quanto de forma prejudicial.

Os microrganismos já existiam na Terra há bilhões de anos antes do surgimento das plantas e dos animais, e será visto em capítulos posteriores que a diversidade genética e fisiológica da vida microbiana é significativamente maior do que aquela de plantas e animais. Embora os microrganismos sejam as menores formas de vida (**Figura 1.1**), coletivamente eles constituem a maior parte da biomassa da Terra e executam

muitas reações químicas essenciais para os organismos superiores. Na ausência dos microrganismos, as formas de vida superiores nunca teriam surgido e não poderiam ser sustentadas. De fato, o próprio oxigênio que respiramos é o resultado de atividade microbiana precedente. Além disso, seres humanos, plantas e animais são intimamente dependentes da atividade microbiana para a reciclagem de nutrientes-chave e para a degradação de matéria orgânica. É, portanto, seguro dizer que nenhuma outra forma de vida é tão importante para o suporte e manutenção da vida na Terra quanto os microrganismos.

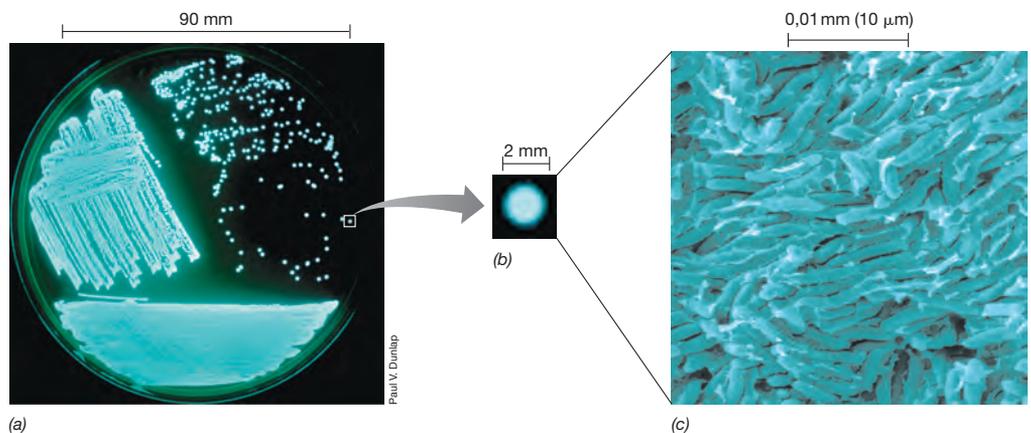
Este capítulo dá início à nossa jornada pelo mundo microbiano. Aqui começa-se a descobrir o que os microrganismos são e o que eles fazem, bem como a explorar sua história evolutiva e impacto no planeta Terra. Além disso, a microbiologia será situada em um contexto histórico, como um processo de descoberta científica. A partir das marcantes contribuições de ambos, microbiologistas e cientistas praticantes, hoje, o mundo microbiano começará a ser revelado.

#### MINIQUESTIONÁRIO

- Se a vida microbiana não tivesse evoluído, você estaria aqui hoje? Dê uma boa justificativa para a sua resposta.
- Por que as células microbianas são ferramentas úteis para a ciência básica? Por que os microrganismos são importantes para os seres humanos?

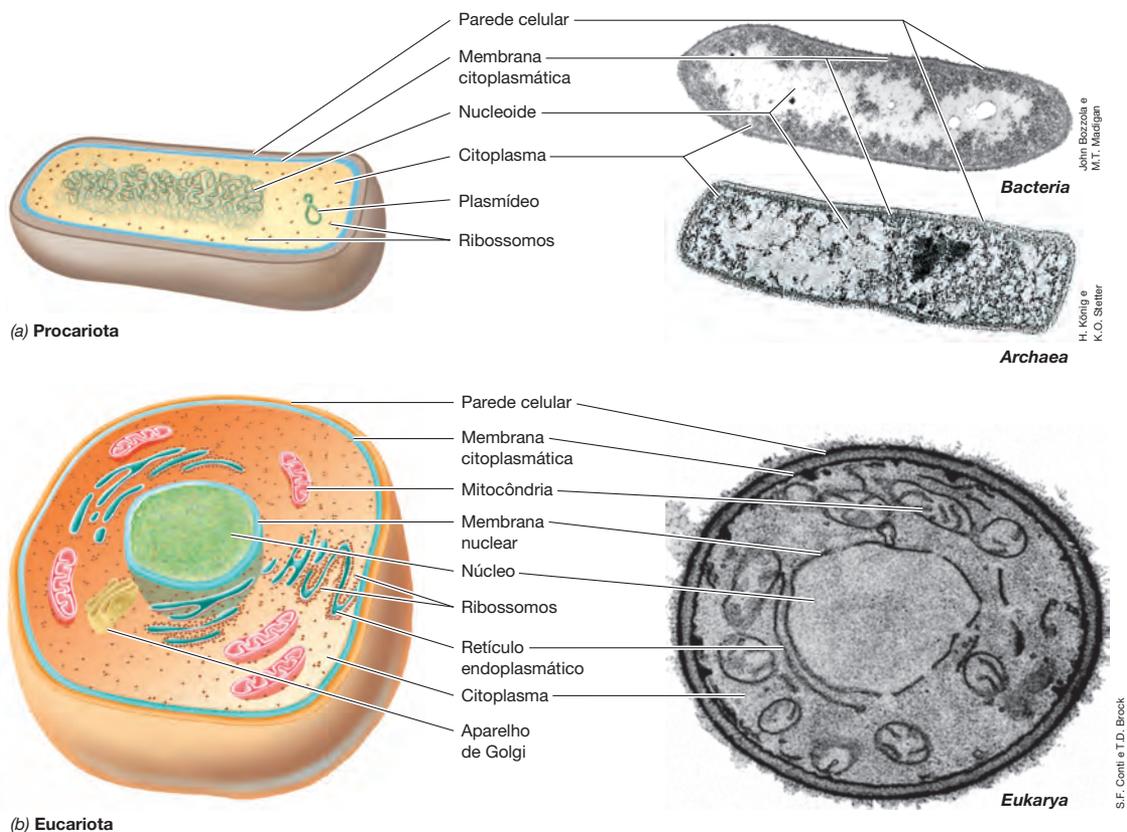
### 1.2 Estrutura e funções das células microbianas

As células microbianas são compartimentos vivos que interagem com o meio circundante e com outras células de forma dinâmica. No Capítulo 2, será estudada em detalhes a estrutura das células e serão relacionadas estruturas específicas com suas funções correspondentes. Aqui apresenta-se uma visão geral da estrutura microbiana e suas funções. Os vírus foram propositalmente excluídos desta discussão porque, embora eles se assemelhem a células de diversas maneiras, vírus não



**Figura 1.1** Células microbianas. (a) Colônias bioluminescentes (que emitem luz) da bactéria *Photobacterium* cultivadas em cultura laboratorial em uma placa de Petri. (b) Uma única colônia pode conter mais de 10 milhões ( $10^7$ )

de células individuais. (c) Micrografia eletrônica de varredura das células de *Photobacterium*.



**Figura 1.2** Estrutura da célula microbiana. (a) Diagrama de uma célula procariota (à esquerda). Micrografia eletrônica de *Heliobacterium modesticaldum* (*Bacteria*, a célula tem em torno de 1  $\mu\text{m}$  de diâmetro) e de *Thermoproteus neutrophilus* (*Archaea*, a célula tem em torno de 0,5  $\mu\text{m}$  de

diâmetro) (à direita). (b) Diagrama de uma célula eucariota (à esquerda). Micrografia eletrônica de uma célula de *Saccharomyces cerevisiae* (*Eukarya*, a célula tem em torno de 8  $\mu\text{m}$  de diâmetro) (à direita).

são células e representam uma categoria especial de microrganismos. Serão consideradas a estrutura, diversidade e função dos vírus nos Capítulos 8 e 9.

### Elementos da estrutura microbiana

Algumas características e determinados componentes podem ser observados em vários tipos de células (Figura 1.2). Todas as células possuem uma barreira de permeabilidade chamada de **membrana citoplasmática** que separa o interior da célula, o **citoplasma**, do ambiente externo. O citoplasma é uma mistura aquosa de **macromoléculas** – proteínas, lipídeos, ácidos nucleicos e polissacarídeos – moléculas orgânicas menores (principalmente precursores de macromoléculas), diversos íons inorgânicos, e **ribossomos**, as estruturas sintetizadoras de proteínas das células. A **parede celular** confere resistência estrutural à célula; é uma estrutura relativamente permeável localizada exteriormente à membrana plasmática além de ser uma camada muito mais forte do que a membrana em si. Células de plantas e a maioria dos microrganismos possuem parede celular, enquanto as células animais, com raras exceções, não possuem.

A análise da estrutura interna da célula revela dois padrões, chamados de **procariota** e **eucariota**. Os procariotas incluem os reinos *Bacteria* e *Archaea* e consistem em células pequenas e estruturalmente bastante simples (Figura 1.2a). Os eucariotas são caracteristicamente maiores que os procariotas

e contêm uma variedade de estruturas citoplasmáticas envolvidas em membranas chamadas de **organelas** (Figura 1.2b). Essas incluem, mais proeminentemente, o núcleo que contém o DNA, mas também mitocôndrias e cloroplastos, organelas especializadas no fornecimento de energia para a célula, além de diversas outras organelas. Os microrganismos eucariotas incluem algas, protozoários e outros protistas, bem como os fungos. As células de plantas e animais também são eucarióticas. Apesar das diferenças *estruturais* claras entre procariotas e eucariotas (Figura 1.2), a palavra “procariota” não implica um parentesco *evolutivo*. Como será visto na próxima seção, embora espécies de bactérias e arqueias possam *parecer* similares, elas não estão intimamente relacionadas do ponto de vista evolutivo.

### Genes, genoma, núcleo e nucleóide

Os processos vitais das células são controlados pelo seu conjunto de genes, o **genoma**. Um gene é um segmento de DNA que codifica proteínas ou moléculas de RNA. O genoma é o projeto de vida de um organismo; as características, atividades, e sobrevivência de uma célula são controladas pelo seu genoma. Os genomas de procariotas e eucariotas são organizados diferentemente. Em eucariotas, o DNA está presente na forma molecular linear, dentro de uma membrana fechada, chamada de **núcleo**. Em contrapartida, o genoma de bactérias e arqueias está presente na forma de um cromossomo circular fechado

(alguns procariotas apresentam cromossomo linear). O cromossomo se agrega dentro da célula para formar o **nucleoide**, uma massa visível ao microscópio eletrônico (Figura 1.2a). A maioria dos procariotas possui apenas um cromossomo, mas muitos podem apresentar, também um ou mais pequenos círculos de DNA diferentes do DNA cromossômico, chamados de **plasmídeos**. Os plasmídeos contêm genes que conferem determinada propriedade especial à célula (como um metabolismo diferenciado ou resistência a antibiótico) em vez de genes essenciais indispensáveis em todas as condições de crescimento. Essas características contrastam com os genes cromossômicos, a maioria dos quais são necessários para a sobrevivência básica.

Quantos genes uma célula possui? Sabe-se que este é um número bastante variável devido à quantidade de genomas que já foram sequenciados. O genoma do modelo bacteriano *Escherichia coli* possui um tamanho bastante característico; é um cromossomo circular único formado por 4.639.221 pares de bases de DNA agrupadas em 4.288 genes. Os genomas de alguns procariotas são três vezes este tamanho, enquanto os genomas de outros contêm quantidades tão pequenas quanto um vigésimo de muitos genes. Células eucarióticas normalmente possuem genomas muito maiores do que as procarióticas. Uma célula humana, por exemplo, contém 1.000 vezes mais DNA que uma célula de *E. coli* e cerca de sete vezes mais genes.

### Atividades das células microbianas

Quais atividades as células microbianas são capazes de realizar? Vê-se que, na natureza, as células microbianas vivem comumente em grupos, chamados de **comunidades microbianas**. A Figura 1.3 considera algumas das atividades celulares em curso dentro da comunidade microbiana. Todas as células apresentam algum tipo de **metabolismo** por meio da retirada de nutrientes do meio ambiente e transformação dos mesmos em novos materiais e resíduos celulares. Durante essas transformações, a energia é conservada para que esta possa ser utilizada pela célula para suportar a síntese de novas estruturas. A produção dessas novas estruturas leva à divisão celular e formação de duas novas células. Em microbiologia, utiliza-se a palavra **crescimento** em referência a um aumento no número de células em consequência da divisão celular.

Durante o metabolismo e crescimento, ambos os eventos, genético e catalítico, acontecem na célula; o fluxo de informação biológica é iniciado e há o envolvimento de diversas vias metabólicas. Do ponto de vista genético, o genoma da célula é replicado, e as proteínas necessárias para o suporte do crescimento sob determinadas condições são biossintetizadas nos processos sequenciais de **transcrição** e **tradução** (Figura 1.3). Esses eventos requerem que a maquinaria catalítica da célula – as **enzimas** – execute reações que forneçam energia, além dos precursores necessários para a biossintese de todos os componentes celulares. Os eventos catalíticos e genéticos em uma célula microbiana são coordenados e altamente regulados, de forma a garantir que os novos materiais celulares sejam produzidos na ordem e concentração adequadas, e que a célula permaneça em sintonia ótima com o meio exterior.

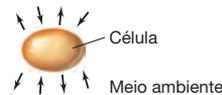
Muitas células microbianas apresentam **motilidade**, basicamente por meio de autopropulsão (Figura 1.3). A motilidade permite que as células consigam se afastar de condições desfavoráveis e possam explorar novos recursos ou oportunidades de crescimento. Algumas células microbianas sofrem **diferen-**

#### Propriedades de todas as células:

##### Metabolismo

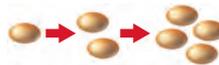
As células captam os nutrientes do meio, realizam a sua transformação e eliminam os produtos de excreção no meio.

1. Genético (replicação, transcrição, tradução)
2. Catalítico (energia, biossintese)



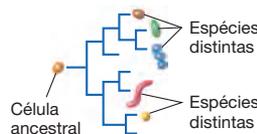
##### Crescimento

Os nutrientes do meio ambiente são convertidos em novos materiais celulares para a formação de novas células.



##### Evolução

As células evoluem para apresentar novas propriedades biológicas. As árvores filogenéticas revelam as relações evolutivas entre as células.



#### Propriedades de algumas células:

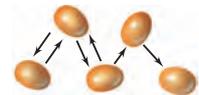
##### Diferenciação

Algumas células podem formar novas estruturas celulares, como esporos.



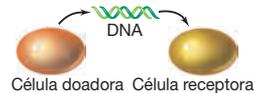
##### Comunicação

As células interagem umas com as outras por meio de mensageiros químicos.



##### Intercâmbio genético

As células podem fazer intercâmbio de genes por meio de diversos mecanismos.



##### Motilidade

Algumas células são capazes de realizar a autopropulsão.



**Figura 1.3** Propriedades das células microbianas. As principais atividades em curso nas células em uma comunidade microbiana são retratadas.

**ciação**, o que pode resultar na formação de células modificadas especializadas em crescimento, dispersão ou sobrevivência. As células respondem aos sinais químicos do ambiente, incluindo aqueles produzidos por outras células da sua própria espécie ou de espécies diferentes, e esses sinais muito frequentemente desencadeiam novas atividades celulares. Assim, as células microbianas exibem **comunicação** intercelular; elas estão “conscientes” da presença das células vizinhas e conseguem então responder de acordo. Muitas células procariotas podem também transferir genes ou aceitar genes oriundos das células vizinhas, sejam elas da mesma espécie ou de espécies diferentes, em um processo chamado de **intercâmbio genético**.

**Evolução** (Figura 1.3) é o processo de geração de descendentes com modificações, nos quais variantes genéticas (mutantes) são selecionados baseados na sua aptidão reprodutiva. Embora se aprenda na biologia básica que a evolução é um processo bastante lento, a evolução nas células microbianas pode ser bem acelerada quando a pressão seletiva é forte. Por exemplo, como comprovação desse fato, hoje há os genes que codificam resistência a antibióticos em bactérias patogênicas (que causam doenças), que foram selecionados e amplamente distribuídos por meio do uso indiscriminado de antibióticos na medicina humana e veterinária. O intercâmbio genético entre células procarióticas, o qual é independente da evolução (Figura 1.3), pode também acelerar de forma significativa a adaptação das células a novos habitats ou a mudanças rápidas do meio circundante.

Nem todos os processos retratados na Figura 1.3 acontecem em todas as células. Metabolismo, crescimento e evolução, no entanto, são universais. Agora, verifica-se os resultados da evolução microbiana, que resultou na enorme diversidade do mundo microbiano, a qual tem sido revelada pela microbiologia moderna.

### MINIQUESTIONÁRIO

- Quais funções importantes para a célula são executadas pelas organelas a seguir: membrana citoplasmática, ribossomos, parede celular?
- Quais tipos celulares possuem um núcleo? Nucleoide? O que é um genoma celular e qual a sua importância?
- O que os termos “crescimento” e “motilidade” significam em microbiologia?

## 1.3 Evolução e diversidade das células microbianas

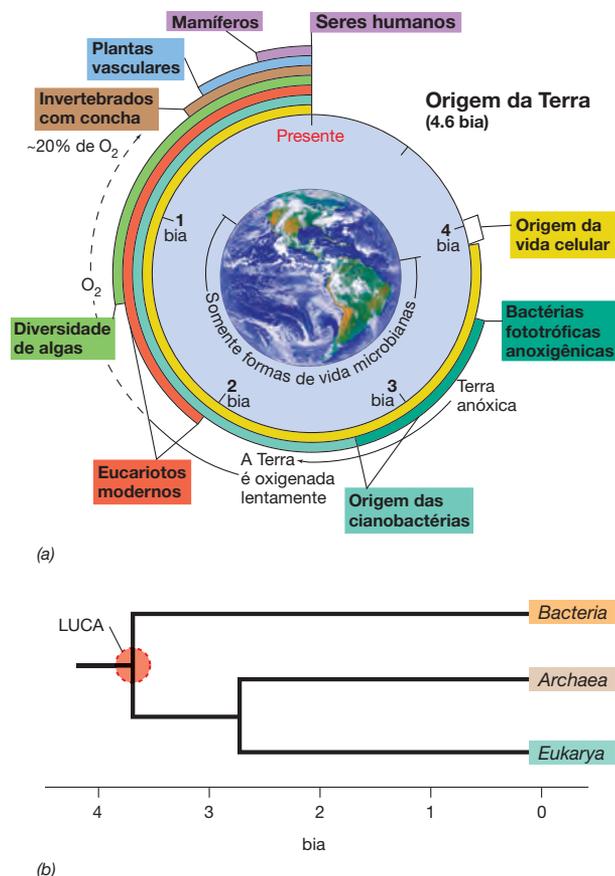
Os microrganismos foram os primeiros seres na Terra que demonstraram propriedades passíveis de serem relacionadas com a vida. Como se originaram as células microbianas e como essas células estão relacionadas umas com as outras?

### As primeiras células e os primórdios da evolução

Uma vez que todas as células são construídas de maneira similar, é provável que todas elas tenham descendido de uma célula ancestral comum, o *último ancestral universal comum* (LUCA, *last universal common ancestor*). Após o surgimento das primeiras células a partir de matérias inanimadas, um processo que ocorreu ao longo de centenas de milhões de anos, seu crescimento subsequente originou populações de células, e estas começaram a interagir com outras populações celulares, formando comunidades microbianas. Ao longo do caminho, a evolução e o intercâmbio genético produziram variantes, que puderam ser selecionadas pelos aperfeiçoamentos que tornaram seu sucesso e sua sobrevivência mais prováveis. Hoje, pode-se observar o resultado grandioso desses processos, que vêm acontecendo há quase 4 bilhões de anos.

### A vida na Terra ao longo das eras

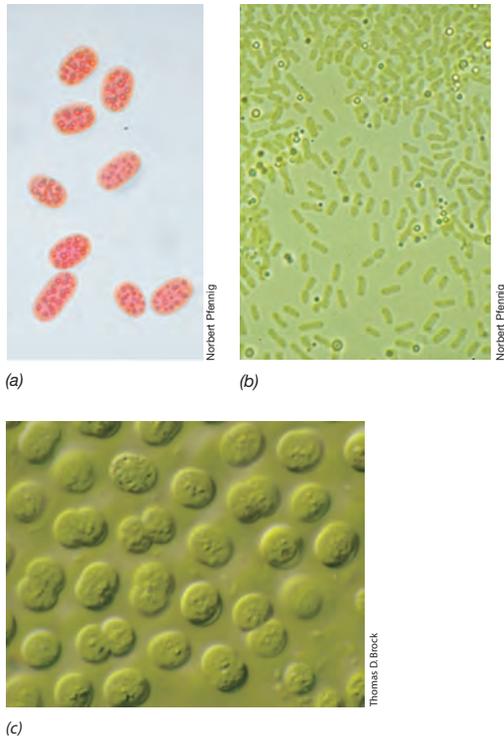
A idade da Terra é de 4,6 bilhões de anos, e as evidências demonstram que as células microbianas surgiram inicialmente na Terra entre 3,8 e 3,9 bilhões de anos atrás (Figura 1.4). Durante os primeiros 2 bilhões de anos de existência da Terra, a atmosfera apresentava-se anóxica ( $O_2$  estava ausente), estando presentes apenas nitrogênio ( $N_2$ ), dióxido de carbono ( $CO_2$ ) e alguns outros poucos gases. Somente os microrganismos capazes de realizar um metabolismo anaeróbico poderiam sobreviver nessas condições. A evolução dos microrganismos fototróficos – organismos que armazenam energia a partir da luz solar – ocorreu durante um período de 1 bilhão de anos desde a formação da Terra. Os primeiros fototróficos eram relativamente simples, como as bactérias púrpuras ou as bactérias verdes, e outros anoxigênicos (que não utilizam oxigênio) fototróficos (Figura 1.5a). As cianobactérias (fototróficos que utilizam o oxigênio) (Figura 1.5b) evoluíram a partir dos fototróficos anoxigênicos cerca de 1 bilhão de anos depois, e iniciaram o longo processo de oxigenação da atmosfera. Em decorrência



**Figura 1.4** Resumo da vida na Terra por meio do tempo e origem dos domínios celulares. (a) A vida celular encontrava-se presente na Terra há cerca de 3,8 bilhões de anos (bia). As cianobactérias iniciaram a lenta oxigenação da Terra há cerca de 3 bia, porém os atuais níveis de  $O_2$  na atmosfera não foram alcançados antes dos últimos 500 a 800 milhões de anos. Os eucariotos são células nucleadas (Figura 1.2b) e incluem organismos microbianos e multicelulares. (b) Os três domínios dos organismos celulares são: *Bacteria*, *Archaea* e *Eukarya*. *Archaea* e *Eukarya* divergiram muito antes de as células nucleadas com organelas (em parte “eucariotos modernos”) aparecerem no registro fóssil. LUCA (do inglês, *last universal common ancestor*, ou último ancestral universal comum).

do aumento da concentração de  $O_2$  na atmosfera, as formas de vida multicelulares eventualmente evoluíram e começaram a ficar mais complexas, originando as plantas e os animais que conhecemos atualmente. Contudo, plantas e animais apenas começaram a existir na Terra há cerca de meio bilhão de anos. A linha do tempo da vida na Terra (Figura 1.4a) mostra que 80% da história da vida foi exclusivamente microbiana, dessa forma, em muitos aspectos, a Terra pode ser considerada um planeta microbiológico.

Com o desenrolar dos eventos evolutivos, três linhagens principais de células microbianas – *Bacteria*, *Archaea* e *Eukarya* (Figura 1.4b) – foram distintas; as células da *Eukarya* microbiana foram as ancestrais das plantas e animais. Essas três linhagens celulares principais são chamadas de **domínios**. Durante um grande período de tempo, a seleção natural preencheu cada ambiente na Terra que apresentava condições adequadas com microrganismos cuja ancestralidade pode ser rastreada até um desses três domínios.



**Figura 1.5** **Microorganismos fototróficos.** (a) Bactéria púrpura sulfurosa e (b) bactéria verde sulfurosa (ambas fototróficos anoxigênicos). (c) Cianobactérias (fototróficos oxigênicos). As bactérias púrpura e verde apareceram na Terra muito antes dos fototróficos oxigênicos evoluírem (ver Figura 1.4a).

### Diversidade microbiana

A avaliação da história filogenética do mundo microbiano – que revelou assim a sua verdadeira diversidade – só foi possível após o surgimento de ferramentas que permitissem a execução desse trabalho. Diferentemente de plantas e animais para os quais ossos, fósseis, folhas e similares podem ser utilizados na reconstrução de filogenias, esses restos não estavam disponíveis para orientar a construção de uma árvore evolutiva microbiana. No entanto, as descobertas realizadas nos últimos 40 anos ou mais têm demonstrado claramente que cada célula contém um registro de sua história evolutiva incorporado em seus genes. Por razões que serão abordadas nos capítulos posteriores, genes que codificam *RNAs ribossomais* aparecem como excelentes indicadores da diversidade microbiana. Os RNAs ribossomais são componentes dos ribossomos (Figura 1.2), as estruturas que sintetizam novas proteínas como parte do processo de tradução. A tecnologia para revelar a filogenia de um microrganismo a partir dos seus genes de RNA ribossomal já se encontra bem desenvolvida, e, a partir de apenas algumas células, uma árvore filogenética que mostra a posição de qualquer organismo em relação aos seus adjacentes pode ser construída (Figura 1.6a).

A medida que a árvore filogenética da vida vai sendo construída a partir dos genes do RNA ribossomal (Figura 1.6b), esta tem demonstrado a existência de milhares de espécies de bactérias e arqueias, bem como centenas de espécies de eucariotos microbianos (a árvore da Figura 1.6b mostra apenas algumas linhagens de referência). A árvore da vida também revelou dois fatos importantes que não eram esperados: (1)

bactérias e arqueias são filogeneticamente distintas apesar de compartilharem muitos aspectos estruturais (Figura 1.2a), e (2) arqueias são mais estreitamente relacionadas com eucariotos do que com bactérias. Do último ancestral universal comum de todas as células (Figura 1.4b), a evolução prosseguiu por dois caminhos para formar os domínios *Bacteria* e *Archaea*. Em algum momento posterior, o domínio *Archaea* divergiu para distinguir *Eukarya* de *Archaea* (Figuras 1.4b e 1.6b).

As ferramentas para a geração de filogenias microbianas em culturas puras de microrganismos (Figura 1.6a) foram adaptadas para uso em ambientes naturais, a fim de investigar a diversidade das comunidades microbianas. Essas técnicas têm melhorado significativamente nossa imagem da diversidade microbiana, e levaram à impressionante conclusão de que a maioria dos microrganismos que existem na Terra ainda não foi cultivada em laboratório! Parece agora que a nossa compreensão da diversidade microbiana ainda está apenas começando. No entanto, a árvore universal da vida nos oferece um roteiro de orientação para os futuros trabalhos sobre diversidade microbiana, além de revelar o conceito anteriormente desconhecido dos três domínios evolutivos da vida.

### MINIQUESTIONÁRIO

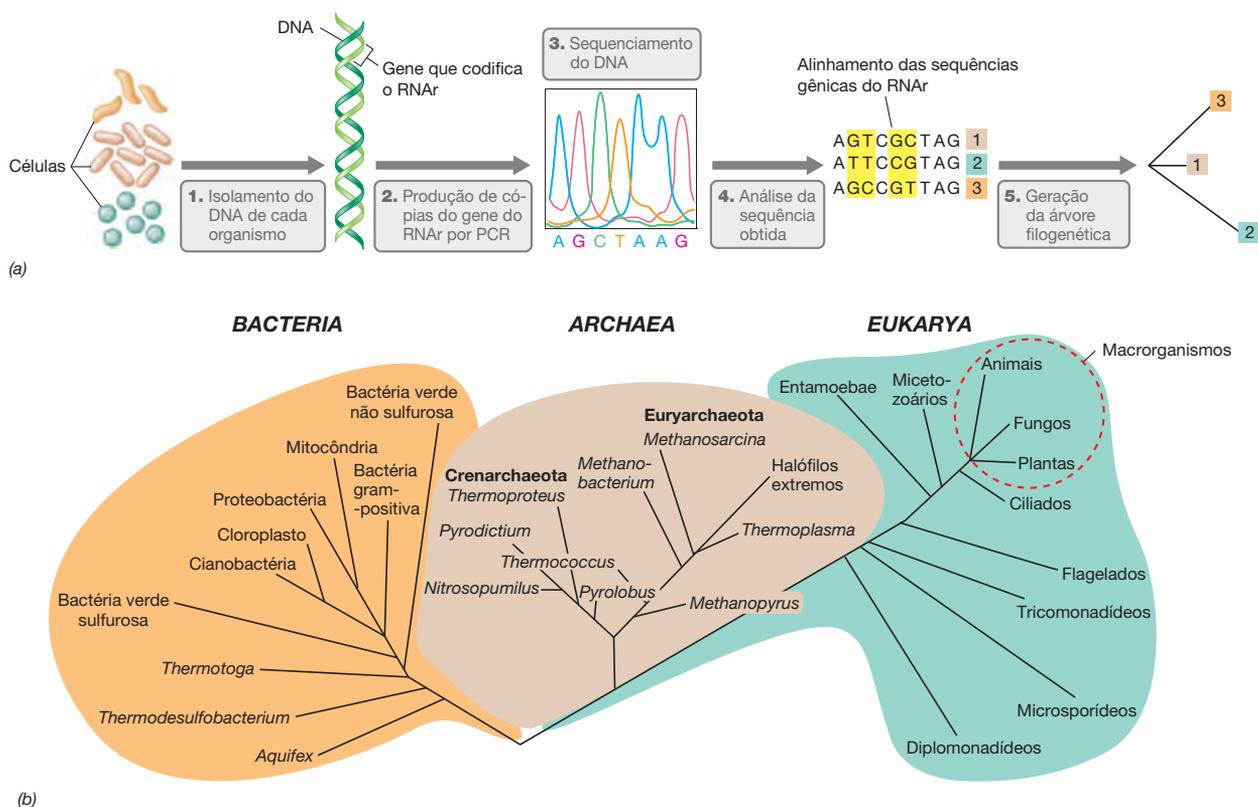
- Qual é a idade da Terra e quando as células apareceram primeiramente no planeta?
- Por que as cianobactérias foram tão importantes na evolução da vida na Terra?
- Como a história filogenética dos microrganismos pode ser determinada?
- Nomeie os três domínios da vida.

## 1.4 Os microrganismos e seus respectivos ambientes

Na natureza, as células microbianas vivem em associação com outras células. Uma *população* é um grupo de células originadas de uma única célula parental a partir de sucessivas divisões celulares. O ambiente propriamente dito no qual uma população microbiana vive é chamado de **hábitat**. Populações de células interagem com outras populações em **comunidades microbianas** (Figura 1.7). A abundância e diversidade de qualquer comunidade microbiana são fortemente controladas pelos *recursos* (alimento) disponíveis e pelas *condições* (temperatura, pH, presença ou ausência de oxigênio, e assim por diante) que prevalecem naquela comunidade.

### Ecosistemas microbianos

As populações microbianas podem interagir umas com as outras de várias maneiras, sendo elas benéficas, neutras ou prejudiciais. Por exemplo, os resíduos metabólicos de alguns organismos podem ser nutrientes ou mesmo tóxicos para outros grupos de organismos. Os habitats diferem acentuadamente em suas características, e um habitat que é favorável para o crescimento de um organismo pode, na realidade, ser nocivo para outro. Coletivamente, denomina-se todos os seres vivos, juntamente com os constituintes físicos e químicos de seu meio ambiente, um **ecossistema**. Os principais ecossistemas microbianos são *aquáticos* (oceanos, lagoas, lagos, riachos, gelo, fontes termais), *terrestres* (solos superficiais, subsolo profundo) e *organismos superiores* (dentro de ou sobre plantas e animais).



**Figura 1.6** Relações evolutivas e a árvore da vida filogenética. (a) A tecnologia por trás da filogenia do gene do RNA ribossomal. 1. O DNA é extraído das células. 2. Cópias do gene que codifica o RNAr são produzidas por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR; ➡ Seção 11.3). 3, 4. O gene é sequenciado e a sequência obtida é alinhada com sequências de outros organismos. Um algoritmo de computador realiza comparações de pares em cada base e gera uma árvore filogenética, 5, que retrata as relações evolu-

tivas. No exemplo mostrado, as diferenças na sequência são destacadas em amarelo, sendo as seguintes: organismo 1 versus organismo 2, três diferenças; 1 versus 3, duas diferenças; 2 versus 3, quatro diferenças. Além disso, os organismos 1 e 3 possuem parentesco mais próximo do que 2 e 3 ou 1 e 2. (b) A árvore filogenética da vida. A árvore mostra os três domínios dos organismos e alguns grupos representativos em cada domínio.

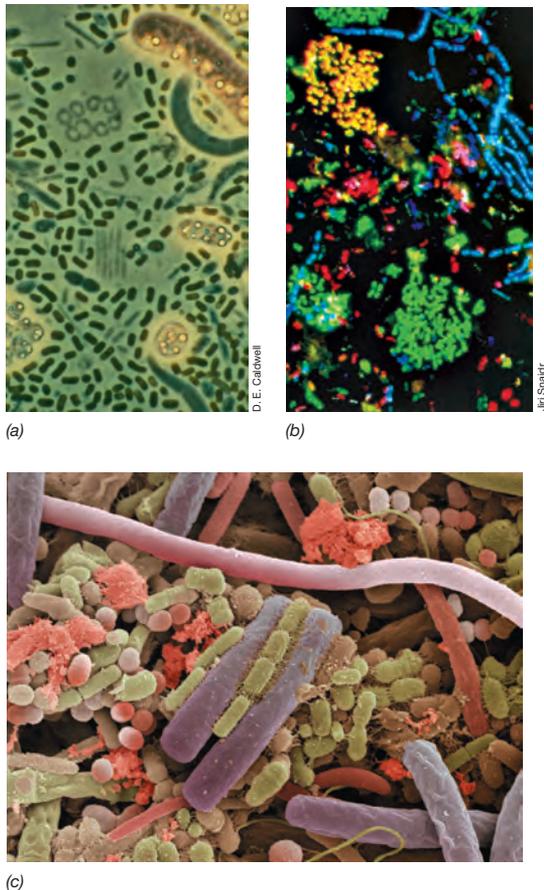
Um ecossistema é fortemente influenciado pelas atividades microbianas. Os microrganismos que realizam processos metabólicos removem nutrientes do ecossistema utilizando-os para a construção de novas células. Simultaneamente, eles devolvem os produtos de excreção ao ambiente. Dessa forma, os ecossistemas microbianos expandem-se e contraem-se, dependendo dos recursos e das condições disponíveis, bem como das diferentes populações de organismos que eles podem suportar. Ao longo do tempo, as atividades metabólicas dos microrganismos alteram de forma gradativa esses ecossistemas, tanto química quanto fisicamente. Por exemplo, o oxigênio molecular ( $O_2$ ) é um elemento vital para alguns microrganismos, porém tóxico para outros. Se microrganismos aeróbios (consumidores de oxigênio) removem o  $O_2$  de um habitat, tornando-o anóxico (desprovido de  $O_2$ ), as condições modificadas podem então favorecer o crescimento de microrganismos anaeróbios que se encontravam presentes no habitat, mas que estavam anteriormente impossibilitados de se desenvolver. Em outras palavras, à medida que os recursos e as condições dos habitats microbianos se modificam, populações celulares surgem e decaem, alterando a composição da comunidade e redefinindo o ecossistema. Em capítulos posteriores, retorna-se à discussão sobre as formas nas quais os microrganismos afetam animais, plantas e todo o

ecossistema global. Essa é a ciência da **ecologia microbiana**, talvez a subdisciplina mais emocionante da microbiologia da atualidade.

### Microrganismos em ambientes naturais

Os microrganismos estão presentes em qualquer lugar da Terra capaz de dar suporte à vida. Esses incluem os habitats que já somos familiarizados – solo, água, animais e plantas –, bem como praticamente todas as estruturas feitas pelos seres humanos. No corpo humano, por si só, as células microbianas superam o número de células do nosso corpo em um fator de dez. A esterilidade (ausência de formas de vida) em qualquer amostra natural é extremamente rara.

Em alguns habitats microbianos, os organismos superiores não conseguem sobreviver devido ao fato de o habitat ser muito quente ou muito frio, muito ácido ou muito cáustico, muito salgado ou com uma forte tensão osmótica, ou ainda apresentar pressões enormes. Embora se possa prever que esses “ambientes extremos” representem um desafio para qualquer forma de vida, esses habitats punitivos são muitas vezes repletos de microrganismos. Estes microrganismos são chamados de **extremófilos** e compreendem um grupo grande e notável, principalmente de bactérias e arqueias, cujas propriedades coletivas definem os limites físico-químicos da vida (Tabela 1.1).



**Figura 1.7** Comunidades microbianas. (a) Uma comunidade bacteriana que se desenvolveu no fundo de um pequeno lago em Michigan, revelando células de várias bactérias fototróficas verdes e púrpuras (células grandes com grânulos sulfurosos). (b) Uma comunidade bacteriana em uma amostra de lodo de esgoto. A amostra foi corada com uma série de corantes, cada um corando um grupo bacteriano específico. De *Journal of Bacteriology* 178: 3496-3500, Fig. 2b. © 1996 American Society for Microbiology. (c) Micrografia eletrônica de varredura de uma comunidade microbiana raspada de uma língua humana.

Os extremófilos são abundantes nesses ambientes hostis como fontes vulcânicas termais; dentro ou sobre os lagos cobertos de gelo (ver página 1), geleiras ou os mares polares; em corpos d'água extremamente salgados; em solos e águas que possuem um pH tão baixo quanto 0 ou tão elevado quanto 12; e no fundo oceânico ou no fundo da Terra, onde as pressões podem exceder a pressão atmosférica em mais de 1.000 vezes. Interessantemente, esses procariotas não apenas *toleram* seu ambiente particular extremo, mas na verdade *requerem* esses extremos para que possam crescer. É exatamente por isso que são chamados de extremófilos (o sufixo *-filo* significa “que gosta de”). A Tabela 1.1 resume os atuais extremófilos “recorristas”, lista os termos utilizados para descrever cada classe, e fornece exemplos de seus habitats. Serão analisados muitos desses organismos em capítulos posteriores, assim como suas propriedades estruturais e bioquímicas especiais que lhes permitem prosperar sob condições extremas.

As estimativas do número total de células microbianas na Terra são da ordem de  $2,5 \times 10^{30}$  células (Tabela 1.2). A quanti-

dade total de carbono presente em todas essas células microbianas equivale àquela presente em todas as plantas da Terra, e o carbono das plantas excede significativamente o carbono dos animais. Além disso, o conteúdo coletivo de nitrogênio e fósforo presente nas células microbianas supera em mais de 10 vezes aquele de toda a biomassa vegetal. Assim, as células microbianas, pequenas como são, não são inconsequentes; constituem a maior porção da biomassa na Terra e são reservatórios-chave dos nutrientes essenciais à vida. Será visto posteriormente que este grande número de células muito pequenas também desempenha um papel importante em muitas questões globais polêmicas, como as alterações climáticas, a produtividade agrícola, combustíveis e muitas outras questões de suma importância para os seres humanos.

A maioria das células microbianas reside em apenas alguns grandes habitats, e por mais estranho que possa parecer, a maioria não reside na *superfície* da Terra, mas em vez disso, se encontram no subsolo, nas subsuperfícies oceânicas e terrestres, em profundidades de até aproximadamente 10 km (Tabela 1.2). Em comparação com a subsuperfície, solos e água superficiais contêm uma porcentagem relativamente pequena do total de células microbianas na Terra. Os animais (incluindo os seres humanos), que são fortemente colonizados por microrganismos, coletivamente contêm apenas uma pequena fração da população microbiana total da Terra (Tabela 1.2). Como tudo que se sabe da vida microbiana tem origem no estudo dos microrganismos que vivem nas superfícies, muitas outras descobertas ainda estão guardadas para os futuros microbiologistas que investigam a fundo os habitats microbianos mais povoados da Terra – aqueles que não podem ser vistos.

#### MINIQUESTIONÁRIO

- De que forma uma comunidade microbiana difere de uma população microbiana?
- O que é um habitat? Como os microrganismos modificam as características de seus habitats?
- O que é um extremófilo?
- Onde a maioria dos microrganismos vive na natureza?

## 1.5 O impacto dos microrganismos nos seres humanos

Ao longo dos anos, os microbiologistas tiveram grandes progressos na descoberta de como os microrganismos atuam, e a aplicação deste conhecimento trouxe grandes avanços à saúde e ao bem-estar dos seres humanos. Além de entender os microrganismos como agentes causadores de doenças, a microbiologia tem avançado bastante na compreensão do importante papel que esses microrganismos desempenham na alimentação e agricultura, de modo que os microbiologistas têm sido capazes de explorar as atividades microbianas para a produção de artigos valiosos para os seres humanos, para a geração de energia e limpeza do meio ambiente.

### Microrganismos como agentes causadores de doenças

As estatísticas resumidas na Figura 1.8 revelam como os microbiologistas e a medicina clínica combinaram-se para controlar as doenças infecciosas nos últimos 100 anos. No início

**Tabela 1.1** Classes e exemplos de extremófilos<sup>a</sup>

Extremo	Termo descritivo	Gênero/espécie	Domínio	Hábitat	Mínimo	Ótimo	Máximo
<b>Temperatura</b>							
Alta	Hipertermófilo	<i>Methanopyrus kandleri</i>	Archaea	Fontes hidrotermais submarinas	90°C	106°C	122°C <sup>b</sup>
Baixa	Psicrófilo	<i>Psychromonas ingrahamii</i>	Bacteria	Geleiras	-12°C	5°C	10°C
<b>pH</b>							
Baixo	Acidófilo	<i>Picrophilus oshimae</i>	Archaea	Fontes termais ácidas	-0,06	0,7 <sup>c</sup>	4
Alto	Alcalifilo	<i>Natronobacterium gregoryi</i>	Archaea	Lagos ricos em carbonato de sódio	8,5	10 <sup>d</sup>	12
<b>Pressão</b>	Barófilo (piezófilo)	<i>Moritella yayanosii</i>	Bacteria	Sedimentos oceânicos profundos	500 atm	700 atm <sup>e</sup>	> 1.000 atm
<b>Sal (NaCl)</b>	Halófilo	<i>Halobacterium salinarum</i>	Archaea	Salinas	15%	25%	32% (saturação)

<sup>a</sup>Os organismos listados são os atuais "recordistas" de crescimento em cultura de laboratório na condição extrema listada.

<sup>b</sup>Anaeróbio mostrando crescimento a 122°C apenas sob diversas atmosferas de pressão.

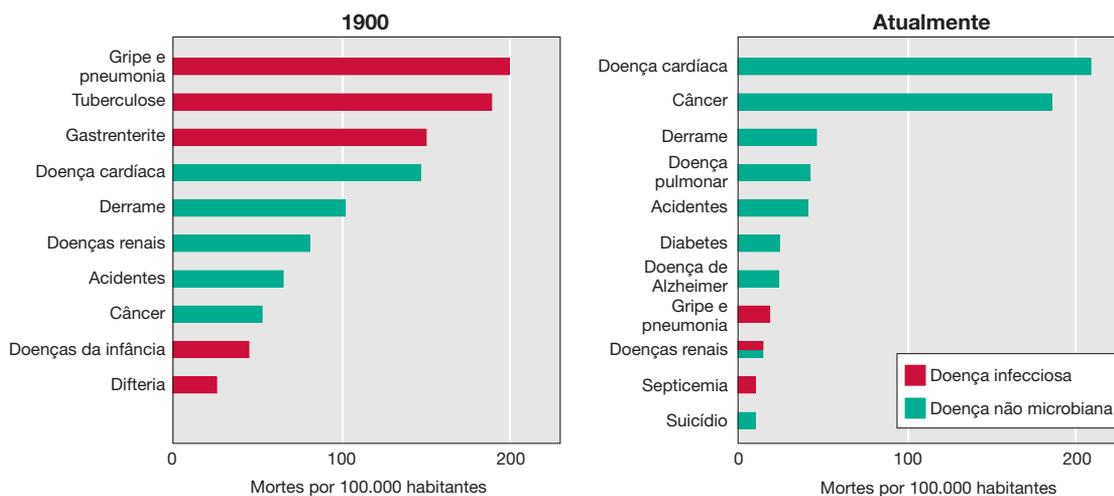
<sup>c</sup>*P. oshimae* também é um termófilo, apresentando crescimento ótimo a 60°C.

<sup>d</sup>*N. gregoryi* também é um halófilo extremo, apresentando crescimento ótimo em NaCl 20%.

<sup>e</sup>*M. yayanosii* também é um psicrófilo, apresentando crescimento ótimo em temperaturas próximas de 4°C.

do século XX, as principais causas de morte humana correspondiam às doenças infecciosas provocadas por bactérias e **patógenos** virais. Naquela época, um grande número de crianças e idosos, particularmente, sucumbiram devido às doenças microbianas. Atualmente, no entanto, as doenças infecciosas são muito menos letais, principalmente nos países desenvolvidos. O controle das doenças infecciosas é o resultado de uma combinação de avanços incluindo um maior entendimento a respeito dos processos das doenças, melhoria das práticas sanitárias e de saúde pública, campanhas de vacinação ativas, e do uso disseminado de agentes antimicrobianos, como os antibióticos. Como será visto posteriormente na segunda parte deste capítulo, o desenvolvimento da microbiologia como ciência pode ser atribuído aos estudos pioneiros das doenças infecciosas.

Embora várias doenças infecciosas estejam sob controle atualmente, muitas outras ainda podem ser uma grande ameaça à vida, especialmente em países em desenvolvimento. Por exemplo, doenças como a malária, tuberculose, cólera, doença do sono africana, sarampo, pneumonia e outras doenças respiratórias, bem como síndromes diarreicas, ainda são comuns em países em desenvolvimento. Além disso, os seres humanos ao redor do mundo estão sob ameaça de doenças que poderiam emergir subitamente, como a gripe aviária ou suína, ou a febre hemorrágica do Ebola; essas são fundamentalmente doenças de animais que sob determinadas circunstâncias podem ser transmitidas para os seres humanos e disseminadas rapidamente por uma população. Assim, os microrganismos ainda constituem graves ameaças à saúde humana em todas as partes do mundo.



**Figura 1.8** Taxas de mortalidade para as principais causas de morte nos Estados Unidos: em 1900 e atualmente. Em 1900, as doenças infecciosas eram as principais causas de morte, ao passo que, atualmente, elas são responsáveis relativamente por poucos óbitos. As doenças renais podem

ser causadas por infecções microbianas ou fontes sistêmicas (diabetes, câncer, toxicidade, doenças metabólicas, entre outras). Dados obtidos do United States National Center for Health Statistics e do Centers for Disease Control and Prevention.

**Tabela 1.2** Distribuição dos microrganismos dentro e fora da superfície da Terra<sup>a</sup>

Hábitat	Porcentagem total
Subsuperfície marinha	66
Subsuperfície terrestre	26
Solo superficial	4,8
Oceanos	2,2
Todos os outros hábitats <sup>b</sup>	1,0

<sup>a</sup>Dados compilados por William Whitman, University of Georgia, USA; referem-se aos números totais (estima-se que cerca de  $2,5 \times 10^{30}$  células) de bactérias e arqueias. Esse enorme grupo de células contém, coletivamente, cerca de  $5 \times 10^{17}$  gramas de carbono.

<sup>b</sup>Incluem, em ordem decrescente de números: lagos de água doce e salgada, animais domésticos, geleiras, cupins, seres humanos e aves domésticas.

Embora devamos considerar a poderosa ameaça representada pelos microrganismos, na realidade, a maioria deles não é prejudicial aos seres humanos. De fato, a maioria dos microrganismos não acarreta danos, sendo, em vez disso, benéficos, e em muitos casos até mesmo essenciais ao bem-estar humano e ao funcionamento do planeta. Voltaremos nossa atenção para esses microrganismos agora.

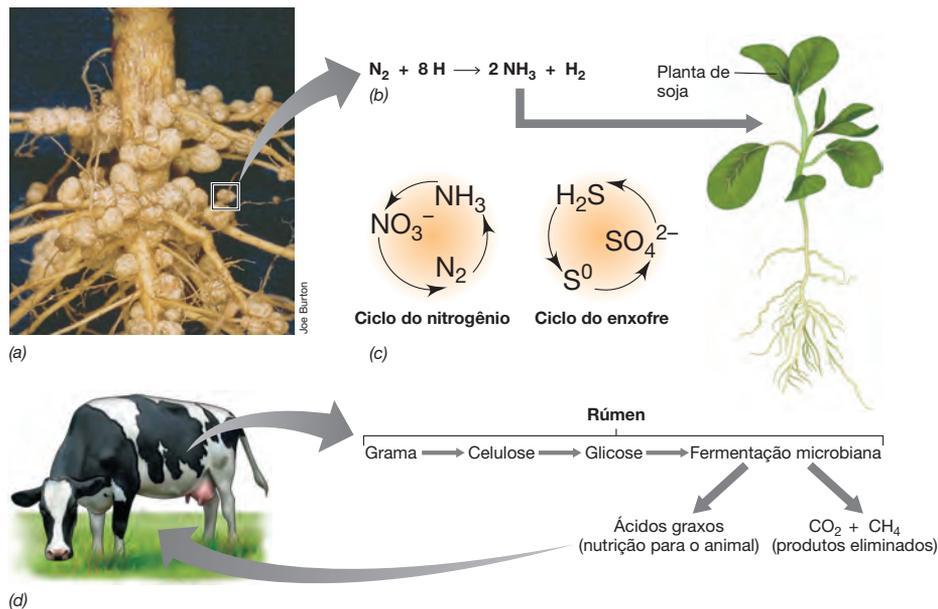
## Microrganismos, agricultura e nutrição humana

A agricultura se beneficia da ciclagem de nutrientes pelos microrganismos. Por exemplo, um grande número de espécies vegetais que alimentam os seres humanos e animais domésticos são as leguminosas. As leguminosas vivem em estreita associação com bactérias que formam estruturas denominadas *nódulos* em suas raízes. Nesses nódulos, essas bactérias convertem o nitrogênio atmosférico ( $N_2$ ) em amônia ( $NH_3$ , o processo de *fixação de nitrogênio*), que as plantas utilizam como fonte de nitrogênio para seu crescimento (Figura 1.9). A fixação de nitrogênio também elimina a neces-

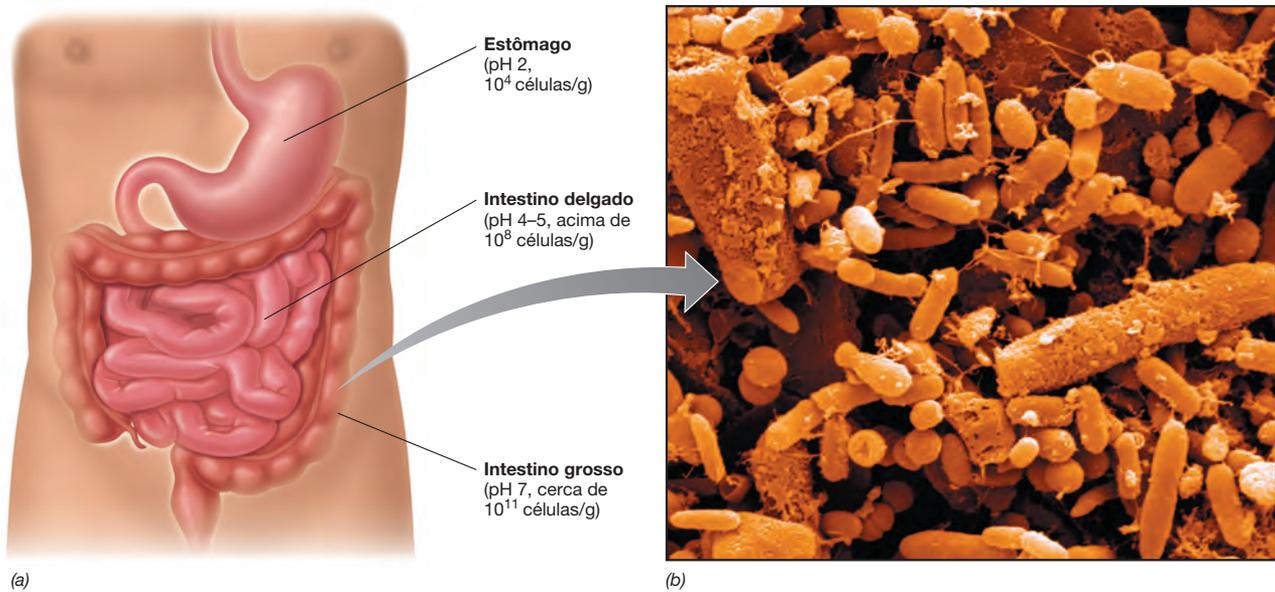
sidade de utilização por parte dos agricultores de fertilizantes nitrogenados dispendiosos e poluentes. Outras bactérias do ciclo do enxofre oxidam compostos tóxicos de enxofre como o sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ) em sulfato ( $SO_4^{2-}$ ), que não apresenta toxicidade e é um nutriente essencial para a planta (Figura 1.9c).

Também de grande importância agrícola são os microrganismos que habitam o *rúmen* de animais ruminantes, como o gado bovino e o ovino. O *rúmen* é um ecossistema microbiano no qual densas populações de microrganismos realizam a digestão e fermentação do polissacarídeo celulose, o principal componente das paredes celulares vegetais (Figura 1.9d). Na ausência desses microrganismos simbióticos, os ruminantes não poderiam desenvolver-se a partir de substâncias ricas em celulose (porém pobres em nutrientes), como capim e feno. Muitos mamíferos domésticos e herbívoros selvagens – incluindo veados, bisões, camelos, girafas e cabras – também são ruminantes.

O trato gastrointestinal humano (GI) não possui um *rúmen*, e uma quantidade de microrganismos comparável com aquela presente no *rúmen* (cerca de  $10^{11}$  células microbianas por grama de conteúdo) é encontrada apenas no colo (intestino grosso). O colo (Figura 1.10) segue o estômago e o intestino delgado no trato digestório, mas diferentemente do *rúmen*, o colo carece de uma quantidade significativa de microrganismos capazes de degradar a celulose. O número de células microbianas é baixo no ambiente altamente ácido (pH 2) do estômago (cerca de  $10^4$  por grama), porém aumenta para cerca de  $10^8$  por grama próximo ao final do intestino delgado (pH 5), até atingir números máximos no colo (pH 7) (Figura 1.10). Os microrganismos no colo auxiliam nos processos digestores sintetizando certas vitaminas e outros nutrientes essenciais, todavia também competem por espaço e recursos com microrganismos patogênicos que podem entrar no trato GI por meio de alimentos e água contaminados. Dessa forma, a microbiota do colo por si só ajuda a prevenir que os microrganismos patogênicos se estabeleçam.



**Figura 1.9** Os microrganismos na agricultura moderna. (a,b) Nódulos radiculares nessa planta de soja contêm bactérias que fixam o nitrogênio molecular ( $N_2$ ) para uso da planta. (c) Os ciclos do nitrogênio e do enxofre, ciclos de nutrientes fundamentais na natureza. (d) Animais ruminantes. Microrganismos no *rúmen* da vaca convertem a celulose da grama em ácidos graxos que podem ser utilizados pelo animal. Os outros produtos não tão desejáveis, como o  $CO_2$  e o  $CH_4$ , são os principais gases responsáveis pelo aquecimento global.



**Figura 1.10** O trato gastrointestinal humano. (a) Diagrama do trato GI humano mostrando os principais órgãos. (b) Micrografia eletrônica de varredura de células microbianas no colo humano (intestino grosso). O número de

células no colo pode ser maior do que  $10^{11}$  por grama. Assim como o número de células, a diversidade microbiana no colo também é bastante elevada.

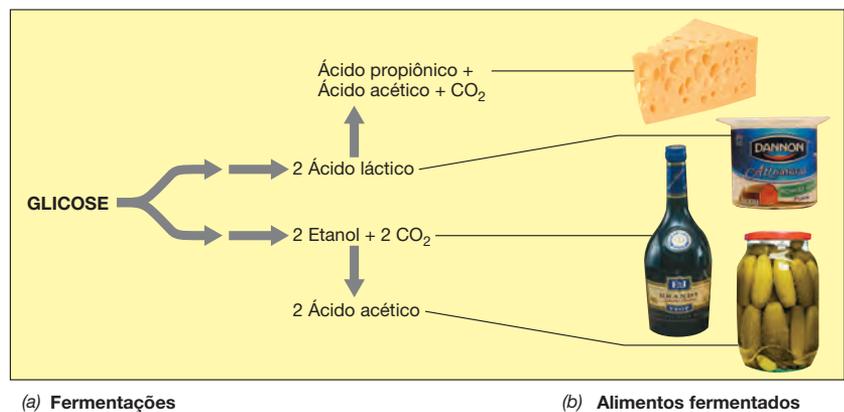
Além dos benefícios à agricultura, os microrganismos também podem exibir efeitos negativos na indústria agrícola. Doenças microbianas de plantas e animais utilizados na alimentação humana causam grandes perdas econômicas todos os anos. Ocasionalmente, um produto alimentar provoca sérias doenças em seres humanos, como quando *Escherichia coli* ou *Salmonella* patogênicas são transmitidas a partir de carne contaminada, ou quando patógenos microbianos são ingeridos com frutas frescas e vegetais contaminados. Dessa forma, os microrganismos impactam significativamente a indústria agrícola em ambos os sentidos, positivo e negativo.

### Microrganismos e alimentos, energia e o meio ambiente

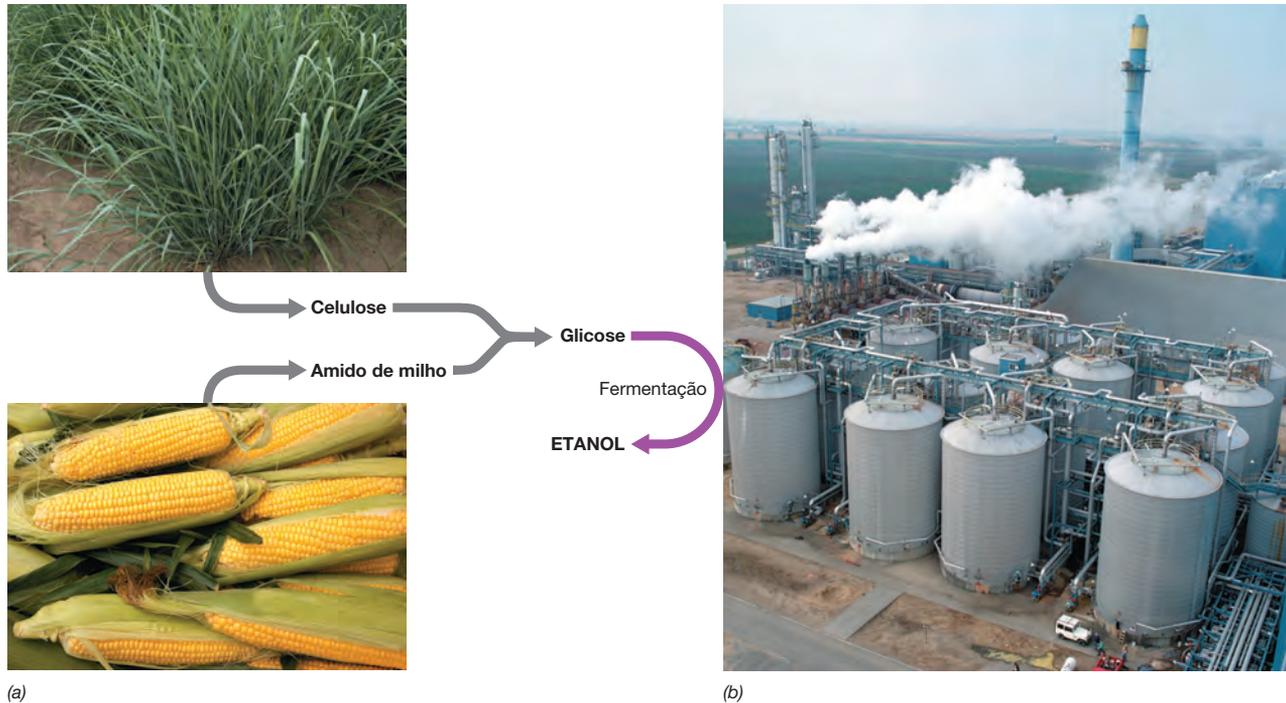
Os microrganismos desempenham papéis importantes na indústria alimentícia, incluindo na deterioração de alimentos, segurança e produção. A deterioração de alimentos, por si só, resulta todos os anos em grandes perdas econômicas, de modo que as indústrias de enlatados, alimentos congelados e alimentos desidratados surgiram para preservar os alimentos que, de outra maneira, sofreriam deterioração microbiana. A segurança alimentar requer o monitoramento constante dos produtos alimentícios para garantir que os mesmos se encontrem livres de patógenos, bem como o rastreamento dos surtos de doenças para a identificação das fontes desses patógenos. Alimentos frescos como carnes, frutas e legumes são mais vulneráveis à contaminação microbiana

e normalmente possuem uma “meia-vida” curta justamente pelo fato de a contaminação ser praticamente impossível de ser evitada.

Embora a segurança alimentar seja um grande problema na indústria alimentícia, nem todos os microrganismos encontrados em alimentos provocam efeitos danosos nesses produtos, ou naqueles que os ingerem. Muitos são desejáveis e até mesmo essenciais, como aqueles que crescem em alimentos fermentados (Figura 1.11). Por exemplo, vários laticínios dependem da atividade de microrganismos para a produção dos principais ácidos característicos daquele produto, como nas fermentações que produzem queijos, iogurte e manteiga. Chucrute, picles e algumas salsichas também estão sujeitos à fermentação microbiana. Além disso, produtos de panificação e bebidas alcoólicas dependem das atividades fermentativas



**Figura 1.11** Alimentos fermentados. (a) As principais fermentações em diversos alimentos fermentados. É o produto de fermentação (etanol, ou ácido láctico, propiônico, ou acético) que preserva o alimento e confere a ele um sabor característico. (b) Foto de vários alimentos fermentados mostrando o produto de fermentação característico de cada um.



(a) **Figura 1.12 Etanol como biocombustível.** (a) Principais safras de plantas utilizadas como matéria-prima para a produção do etanol biocombustível. Foto superior: gramíneas, uma fonte de celulose. Foto inferior: milho, uma fonte

de amido de milho. Amido e celulose são compostos por glicose, a qual é fermentada em etanol por leveduras. (b) Uma usina de etanol nos Estados Unidos. O etanol produzido por fermentação é destilado e, então, estocado nos tanques.

de leveduras, que originam dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), para o crescimento da massa do pão, e álcool como um ingrediente essencial, respectivamente (Figura 1.11). Esses produtos da fermentação, além de serem compostos químicos desejáveis, também desempenham a função de preservar o produto alimentar do crescimento microbiano deletério.

Alguns microrganismos produzem *biocombustíveis*. Por exemplo, o gás natural (metano,  $\text{CH}_4$ ) é um produto do metabolismo anaeróbico de um grupo de arqueias, chamadas de *metanogênicas*. O álcool etílico (etanol), produzido pela fermentação microbiana da glicose a partir de matérias-primas como cana-de-açúcar, milho ou gramíneas de crescimento rápido, é um dos principais combustíveis para motores ou suplementos de combustíveis (Figura 1.12). Resíduos como lixo doméstico, detritos de animais e celulose também podem ser convertidos em etanol e metano; a soja (Figura 1.9) contém óleos que podem ser convertidos em combustível para motores a diesel.

Os microrganismos podem também ser utilizados na degradação de poluentes em um processo denominado *biorremediação*. Na biorremediação, os microrganismos são utilizados para consumir óleo derramado, solventes, pesticidas, e outros poluentes tóxicos ao ambiente. A biorremediação acelera o processo de limpeza por meio da introdução de microrganismos específicos a um ambiente poluído, ou pela adição de nutrientes que auxiliam os microrganismos nativos a degradarem os contaminantes. Em ambos os casos, o objetivo é acelerar o desaparecimento do poluente do meio ambiente.

Os microrganismos também podem ser aproveitados para a fabricação de produtos comercialmente valiosos. Na *micro-*

*biologia industrial*, microrganismos naturais são cultivados em larga escala para a produção de grandes quantidades de artigos de valor relativamente baixo, como antibióticos, enzimas e vários compostos químicos. Em contrapartida, a *biotecnologia* emprega microrganismos geneticamente modificados para sintetizar produtos de elevado valor comercial, como a insulina ou outras proteínas humanas, normalmente em menor escala. A genômica melhorou de forma gigantesca a microbiologia industrial e a biotecnologia, tornando possível pesquisar o genoma de praticamente qualquer organismo na busca por genes de potencial interesse comercial.

Como mostra a discussão anterior, a influência dos microrganismos em seres humanos é grande, e suas atividades são essenciais para o funcionamento do planeta. Ou, como o químico francês eminente e microbiologista pioneiro Louis Pasteur colocou tão bem: “O papel do infinitamente pequeno na natureza é infinitamente grande”. A introdução ao mundo microbiano continua na segunda metade deste capítulo, com uma visão histórica das contribuições de Pasteur e alguns outros cientistas-chave, que foram de suma importância no desenvolvimento da ciência da microbiologia.

#### MINIQUESTIONÁRIO

- Liste duas formas nas quais os microrganismos são importantes na indústria agrícola e alimentícia.
- Dê exemplos de biocombustíveis. Como a fixação de nitrogênio nos nódulos radiculares auxilia na produção de biocombustíveis?
- O que é a biotecnologia e de que forma ela pode melhorar a vida dos seres humanos?

## II • A microbiologia no contexto histórico

O futuro de qualquer ciência está enraizado em suas realizações passadas. Embora a microbiologia possua raízes muito antigas, a ciência na realidade não se desenvolveu de forma sistemática até o século XIX, devido ao fato de que tecnologias como microscópios e técnicas de cultura precisaram acompanhar a intensa curiosidade científica da época. Nos últimos 150 anos ou mais, a microbiologia avançou de forma sem precedentes sobre qualquer outra ciência biológica e tem gerado vários campos novos na biologia moderna. Serão apresentados alguns destaques da história da microbiologia hoje e descritos alguns dos seus principais contribuintes.

### 1.6 A descoberta dos microrganismos

Embora a existência de criaturas pequenas, invisíveis a olho nu, tenha sido especulada há muitos anos, sua descoberta está associada à invenção do microscópio. O matemático e historiador natural inglês Robert Hooke (1635-1703) era um excelente microscopista. Em seu famoso livro, *Micrographia* (1665), o primeiro livro dedicado às observações microscópicas, Hooke ilustrou, entre vários outros temas, as estruturas de frutificação de bolores (Figura 1.13). Essa foi a primeira descrição conhecida dos microrganismos.

A primeira pessoa a visualizar bactérias, as menores células microbianas, foi o comerciante holandês e microscopista amador Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723). Van Leeuwenhoek construiu microscópios extremamente simples, contendo uma única lente, para examinar o conteúdo microbiano de uma variedade de substâncias naturais (Figura 1.14). Esses microscópios eram rudimentares quando comparados aos padrões atuais, mas por meio da manipulação e focalização precisas, van Leeuwenhoek foi capaz de visualizar bactérias. Ele descobriu as bactérias em 1676 enquanto estudava infusões aquosas de pimenta, e relatou suas observações em uma série de cartas enviadas à influente Royal Society of London, que as publicou em 1684 em uma versão em inglês. Desenhos de alguns dos “pequenos animalculos” de van Leeuwenhoek, como ele se referia, estão ilustrados na Figura 1.14b, e uma foto tirada por um microscópio de van Leeuwenhoek é mostrada na Figura 1.14c.

Como as ferramentas experimentais para o estudo dos microrganismos eram rudimentares nesta época, pouco progresso no entendimento sobre a natureza e importância das bactérias foi feito nos 150 anos seguintes. No entanto, em meados do século XIX, a microbiologia despertou. Um dos principais contribuintes durante este período foi o cientista alemão-polonês Ferdinand Cohn (1828-1898), que especializou-se como botânico, e seus interesses na microscopia o conduziram ao estudo de algas unicelulares e posteriormente de bactérias, incluindo a grande bactéria sulfurosa *Beggiatoa* (Figura 1.15). Cohn estava particularmente interessado na resistência térmica apresentada por bactérias, o que o levou a descobrir que algumas bactérias formam *endósporos*. Atualmente, sabe-se que os endósporos bacterianos são formados por diferenciação da célula-mãe (vegetativa) e são estruturas extremamente resistentes ao calor. Cohn descreveu o ciclo de vida da bactéria formadora de endósporos *Bacillus* (célula vegetativa → endósporo → célula vegetativa) e descobriu que as



**Figura 1.13** Robert Hooke e um microscópio antigo. Ilustração do microscópio utilizado por Robert Hooke em 1664. As lentes objetivas eram adaptadas na extremidade de um fole ajustável (G), com a iluminação focalizada no espécime a partir de uma lente separada (1). Detalhe: o desenho de Robert Hooke de um bolor azulado que ele encontrou degradando uma superfície de couro; as estruturas arredondadas contêm os esporos do bolor.

células vegetativas de *Bacillus*, mas não seus endósporos, eram mortas pela água em ebulição.

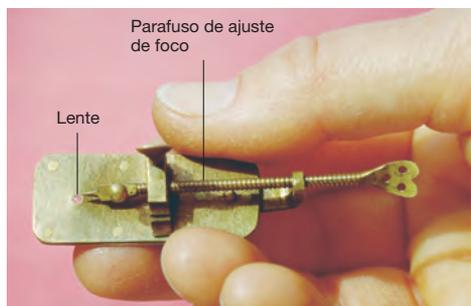
Cohn também introduziu os fundamentos para um sistema de classificação bacteriana e desenvolveu muitos métodos altamente eficazes para prevenir a contaminação de meios de cultura, como a utilização de algodão para fechar os frascos e tubos. Esses métodos foram posteriormente adotados por Robert Koch, o primeiro microbiologista médico, e o permitiram progredir rapidamente no isolamento e na caracterização de várias bactérias causadoras de doenças. Cohn também foi um contemporâneo de Louis Pasteur, e consideraremos as contribuições de Pasteur e Koch nas próximas duas seções.

#### MINIQUESTIONÁRIO

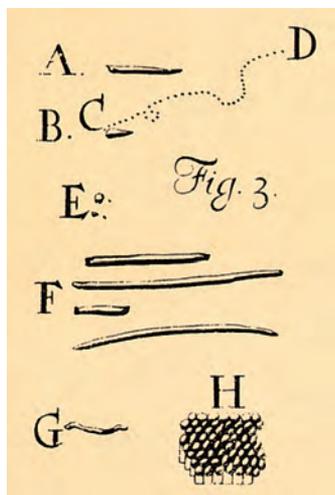
- O que impediu o desenvolvimento da ciência da microbiologia antes da era de Hooke e van Leeuwenhoek?
- Qual descoberta importante surgiu a partir dos estudos de Cohn sobre a resistência térmica dos microrganismos?

### 1.7 Pasteur e a geração espontânea

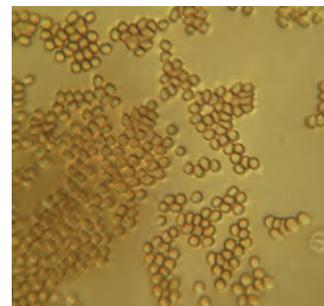
Grandes avanços em microbiologia foram feitos no século XIX devido ao interesse em duas questões principais da época: (1) a geração espontânea acontece? E, (2) qual é a natureza das doenças infecciosas? As respostas para essas perguntas surgiram



(a)



(b)



(c)

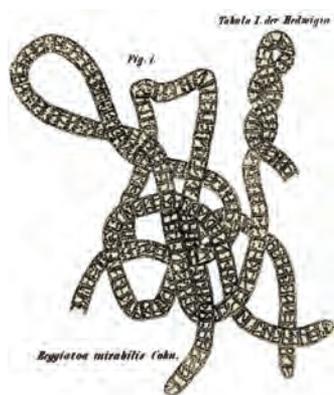
**Figura 1.14** O microscópio de van Leeuwenhoek. (a) Uma réplica do microscópio de Antoni van Leeuwenhoek. (b) Desenhos de van Leeuwenhoek representando bactérias, publicados em 1684. Mesmo a partir desses desenhos relativamente rudimentares, pode-se reconhecer vários tipos morfológi-

cos de bactérias comuns: A, C, F e G, bactérias em forma de bastonete; E, em forma esférica ou de cocos; H, grupos de cocos. (c) Fotomicrografia de um esfregaço de sangue humano tirada por meio de um microscópio de van Leeuwenhoek. As hemácias estão claramente aparentes.

a partir do trabalho de dois gigantes no até então novo campo da microbiologia: o químico francês Louis Pasteur e o médico alemão Robert Koch. Começaremos com o trabalho de Pasteur.

### Isômeros ópticos e fermentações

Pasteur especializou-se em química e foi um dos primeiros cientistas a reconhecer a importância dos *isômeros ópticos*. Uma molécula é opticamente ativa se uma solução pura, ou um cristal da molécula, desvia a luz em uma única direção. Pasteur estudou os cristais de ácido tartárico que separou manualmente naqueles que desviavam um feixe de luz polarizada para a esquerda e naqueles que desviavam o feixe para a direita.



**Figura 1.15** Desenho feito por Ferdinand Cohn da grande bactéria filamentosamente oxidante de enxofre, *Beggiatoa*. Os pequenos grânulos no interior da célula consistem em enxofre elementar, produzido a partir da oxidação do sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ). Cohn foi o primeiro a identificar os grânulos de enxofre, em 1866. Uma célula de *Beggiatoa* apresenta cerca de 15  $\mu m$  de diâmetro. A *Beggiatoa* se locomove sobre superfícies sólidas por um mecanismo de deslizamento, e, fazendo isso, as células frequentemente se torcem umas sobre as outras. Compare esta ilustração de *Beggiatoa* com aquelas feitas por Winogradsky, na Figura 1.24b.

Pasteur descobriu que o bolor *Aspergillus* metaboliza o D-tartarato, que desvia o feixe de luz para a direita, mas não metaboliza o seu isômero óptico L-tartarato (Figura 1.16). O fato de que um organismo vivo poderia discriminar entre os isômeros ópticos não passou despercebido por Pasteur, e ele começou a suspeitar que algumas atividades químicas seriam realmente catalisadas por microrganismos, e que essas poderiam ser distintas de reações puramente químicas.

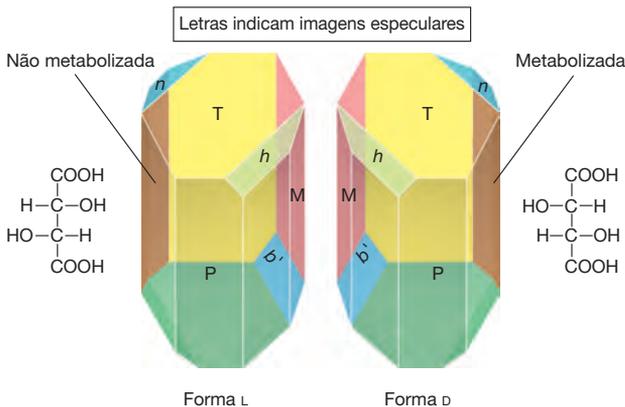
Pasteur iniciou estudos sobre o mecanismo de fermentação alcoólica, que em meados do século XIX era considerado um processo exclusivamente químico. As células de levedura presentes no caldo em fermentação correspondiam a um determinado tipo de substância química formada pelo processo de fermentação. No entanto, observações microscópicas e outros experimentos simples, porém rigorosos, convenceram Pasteur de que a fermentação alcoólica era catalisada por microrganismos vivos, as células de levedura. A partir desses estudos fundamentais, Pasteur iniciou uma série de experimentos clássicos abordando a geração espontânea, experimentos esses que serão eternamente vinculados a seu nome e à ciência da microbiologia.

### Geração espontânea

O conceito de **geração espontânea** existe desde os tempos bíblicos, e seu princípio básico pode ser facilmente compreendido. Se um alimento ou algum outro produto perecível for deixado de lado por algum tempo, apodrecerá. Quando examinado microscopicamente, o material putrefato estará repleto de microrganismos. De onde surgiram esses organismos? Algumas pessoas afirmavam que eles se desenvolveram a partir de sementes ou germes que penetraram no alimento pelo ar. Outras diziam que eles surgiram espontaneamente, a partir de matérias inanimadas, isto é, por *geração espontânea*. Quem estava correto? Essa controvérsia requeria uma percepção aguçada para sua solução, e este foi exatamente o tipo de problema que atraiu o interesse de Louis Pasteur.



(a)



(b)

**Figura 1.16** Louis Pasteur e os isômeros ópticos. (a) Micrografia óptica de células do bolor *Aspergillus*. (b) Ilustrações de Pasteur de cristais de ácido tartárico. Cristais levógiros (formas L) desviam a luz para a esquerda, e cristais dextrógiros (formas D) desviam a luz para a direita. Observe que os dois cristais correspondem a imagens especulares um do outro, uma marca de isômeros ópticos. Pasteur descobriu que apenas D-Tartarato foi metabolizado pelo *Aspergillus*.

Pasteur se tornou um oponente poderoso à teoria da geração espontânea. Após suas descobertas sobre o ácido tartárico e a fermentação alcoólica, Pasteur previu inicialmente que microrganismos em materiais putrefatos eram descendentes de células que entraram a partir do ar, ou de células que estariam depositadas em materiais em decomposição. Pasteur considerou que, se o alimento fosse tratado de modo a destruir todos os organismos vivos presentes – isto é, se fosse tornado **estéril** – e então protegido da contaminação adicional, ele não apodreceria.

Pasteur utilizou o calor para eliminar os microrganismos contaminantes e descobriu que o aquecimento extensivo de uma solução nutritiva, seguido pela sua vedação, impediria que a mesma entrasse em putrefação. Os defensores da geração espontânea criticavam esses experimentos declarando que o “ar fresco” era necessário para a ocorrência do fenômeno. Em 1864, Pasteur contestou esta objeção de forma simples e brilhante, ao construir um frasco com pescoço de cisne, atualmente denominado *frasco de Pasteur* (Figura 1.17). Nesse

tipo de frasco, as soluções nutritivas podiam ser aquecidas até a ebulição, e, então, esterilizadas. No entanto, após o resfriamento do frasco, a reentrada de ar era permitida, porém as curvas no gargalo (o formato em “pescoço de cisne”) impediam a entrada de matéria particulada (incluindo microrganismos) na solução nutritiva, o que causaria a putrefação. As soluções nutritivas presentes em tais frascos permaneciam estéreis indefinidamente.

O crescimento microbiano foi observado apenas após a matéria particulada do gargalo do frasco entrar em contato com o líquido no interior deste (Figura 1.17c), finalizando a controvérsia da geração espontânea para sempre. O trabalho de Pasteur sobre geração espontânea levou naturalmente ao desenvolvimento de procedimentos eficientes de esterilização, os quais foram eventualmente padronizados e estendidos às pesquisas microbiológicas, tanto básicas quanto aplicadas, bem como para a medicina clínica. A indústria alimentícia também se beneficiou do trabalho de Pasteur, uma vez que seus princípios foram rapidamente adaptados para a preservação do leite e muitos outros alimentos por tratamento térmico (pasteurização).

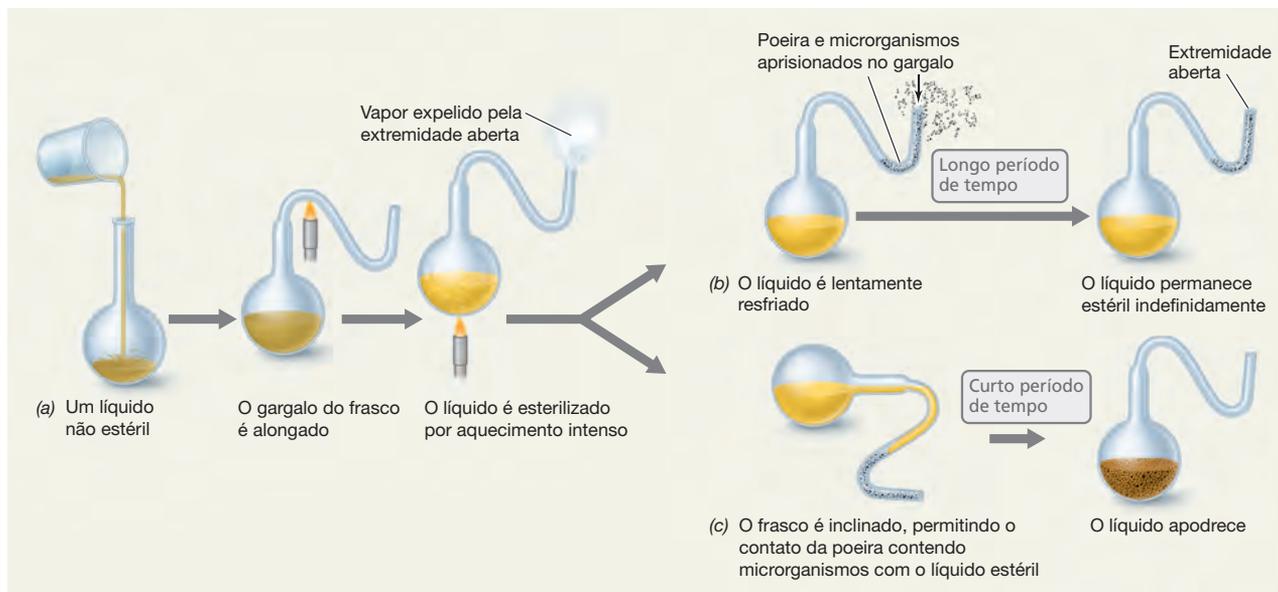
### Outras realizações de Louis Pasteur

Pasteur passou de seu famoso trabalho sobre a geração espontânea para muitos outros triunfos na microbiologia e medicina. Alguns destaques incluem o desenvolvimento de vacinas contra as doenças antraz, cólera aviária e raiva. O trabalho de Pasteur envolvendo a raiva foi seu êxito mais famoso, culminando em julho de 1885, com a primeira administração de uma vacina antirrábica em um ser humano, um jovem rapaz francês, Joseph Meister, que havia sido mordido por um cão raivoso. Naquela época, a mordida de um animal raivoso era invariavelmente fatal. A notícia sobre o sucesso da vacinação de Meister, e de uma administração pouco depois a um jovem pastor, Jean-Baptiste Jupille, se espalhou rapidamente (Figura 1.18a). No decorrer de um ano, milhares de pessoas mordidas por animais raivosos viajaram a Paris para serem tratadas com a vacina antirrábica de Pasteur.

A fama de Pasteur decorrente de sua pesquisa sobre a raiva foi legendária, e levou o governo francês a construir o Instituto Pasteur, em Paris, em 1888 (Figura 1.18b). Originalmente concebido como um centro clínico para tratamento da raiva e de outras doenças contagiosas, o Instituto Pasteur é, atualmente, o principal centro de pesquisa biomédica voltado à pesquisa e produção de antissépticos e vacinas. As descobertas de Pasteur na medicina e na veterinária não foram importantes apenas por si só, mas também auxiliaram a solidificar o conceito da teoria que associava os germes às doenças, cujos princípios estavam sendo desenvolvidos nesse mesmo período por um segundo gigante dessa era, Robert Koch.

### MINIQUESTIONÁRIO

- Defina o termo estéril. Como o experimento com o frasco com pescoço de cisne de Pasteur demonstrou que o conceito de geração espontânea era inválido?
- Além de acabar com as controvérsias sobre a geração espontânea, que outras realizações podem ser creditadas a Pasteur?



**Figura 1.17** Derrota da geração espontânea: o experimento de Pasteur empregando o frasco com pescoço de cisne. Em (c) o líquido apodrece porque os microrganismos entram com a poeira. A curvatura da garrafa

permitiu a entrada de ar (uma objeção fundamental dos frascos selados de Pasteur), mas impediu a entrada de microrganismos.

## 1.8 Koch, doença infecciosa e culturas puras

A comprovação de que alguns microrganismos causam doenças foi o maior impulso no desenvolvimento da ciência da microbiologia como uma ciência biológica independente. Já no século XVI, acreditava-se que algo que causasse uma doença poderia ser transmitido de um indivíduo doente a um indivíduo sadio. Após a descoberta dos microrganismos, acreditava-se amplamente que eles eram os responsáveis, embora faltasse uma prova definitiva. Melhorias nas medidas sanitárias promovidas pelo médico húngaro Ignaz Semmelweis (tentativa de controlar as infecções associadas aos hospitais, 1847) e pelo médico britânico Joseph Lister (introdução de técnicas assépticas para cirurgias, 1867) forneceram evidências indiretas da importância dos microrganismos como agentes causadores de doenças humanas. Porém, somente após os trabalhos de um médico alemão, Robert Koch (1843-1910) (Figura 1.19), que o conceito de doenças infecciosas foi desenvolvido e recebeu uma fundamentação experimental direta.

### A teoria do germe da doença e os postulados de Koch

Em seu trabalho inicial, Koch estudou o antraz, uma doença do gado e, ocasionalmente, de seres humanos. O antraz é causado por uma bactéria formadora de endósporos, denominada *Bacillus anthracis*. A partir de análises microscópicas cuidadosas e utilizando corantes especiais, Koch verificou que as bactérias sempre se encontravam presentes no sangue de um animal que estava morrendo da doença. Entretanto, Koch ponderou que a mera *associação* da bactéria com a doença não era prova real de *causa e efeito*, assim, Koch aproveitou a oportu-

nidade para estudar a causa e o efeito experimentalmente, usando antraz e animais de laboratório. Os resultados desses estudos geraram o padrão a partir do qual as doenças infecciosas têm sido estudadas desde então.

Koch utilizou camundongos como animais experimentais. Empregando todos os controles apropriados, Koch demonstrou que, quando uma pequena quantidade de sangue de um camundongo doente era injetada em um camundongo sadio, este último rapidamente desenvolvia o antraz. Ele coletou sangue deste segundo animal e, após injetá-lo em outro, novamente verificou os sintomas característicos da doença. No entanto, Koch introduziu uma etapa adicional a esse experimento, a qual teve importância fundamental. Ele descobriu que as bactérias do antraz podiam ser cultivadas em fluidos nutrientes *fora do corpo do animal* e que, mesmo após várias transferências em meio de cultura laboratorial, as bactérias ainda causavam a doença quando inoculadas em um animal sadio.

Com base nesses experimentos e em experimentos relacionados com o agente causador da tuberculose, Koch formulou um conjunto de critérios rigorosos, atualmente conhecidos como **postulados de Koch**, para associar definitivamente causa e efeito em uma doença infecciosa. Os postulados de Koch, resumidos na Figura 1.20, salientaram a importância da *cultura laboratorial* do provável agente infeccioso, seguida pela introdução do agente suspeito em animais sadios, e a então recuperação do patógeno dos animais doentes ou mortos. Utilizando esses postulados como guia, Koch, seus alunos, e aqueles que os seguiram descobriram os agentes causadores da maioria das doenças infecciosas importantes de seres humanos e de animais domésticos. Essas descobertas também levaram ao desenvolvimento de tratamentos eficazes para a prevenção e cura de várias dessas



(a)



(b)

**Figura 1.18** Louis Pasteur e os símbolos de suas contribuições à microbiologia. (a) Uma cédula de cinco francos franceses em homenagem a Pasteur. O menino pastor, Jean-Baptiste Jupille, é ilustrado afugentando um cão raivoso que havia atacado um grupo de crianças. A vacina antirrábica de Pasteur salvou a vida de Jupille. Na França, o franco precedeu o euro como moeda. (b) Parte do Pasteur Institute, Paris, França. Atualmente, essa estrutura, construída para Pasteur pelo governo francês, abriga um museu onde estão expostos alguns dos frascos com pescoço de cisne originais utilizados em seus experimentos e uma capela contendo a cripta de Pasteur.

doenças, trazendo, assim, grande avanço às bases científicas da medicina clínica e à saúde e ao bem-estar dos seres humanos (Figura 1.8).

A era da genômica moderna também teve sua influência na questão da causa e efeito das doenças infecciosas por meio do desenvolvimento de métodos moleculares para a identificação de potenciais patógenos. Pela utilização desses métodos, um patógeno pode ser identificado mesmo se não puder ser cultivado, ou até mesmo se o próprio patógeno já estiver morto há muito tempo (ver Explore o mundo microbiano, “A Peste Negra decifrada”). Esses métodos têm revolucionado o diagnóstico e o tratamento das doenças infecciosas.

### Koch, culturas puras e taxonomia microbiana

O segundo postulado de Koch afirma que um patógeno suspeito deve ser isolado e crescido longe de outros microrganismos em uma cultura laboratorial (Figura 1.20); em microbiologia, se diz que tal tipo de cultura é *pura*. Para atingir esse importante objetivo, Koch e seus associados desenvolveram



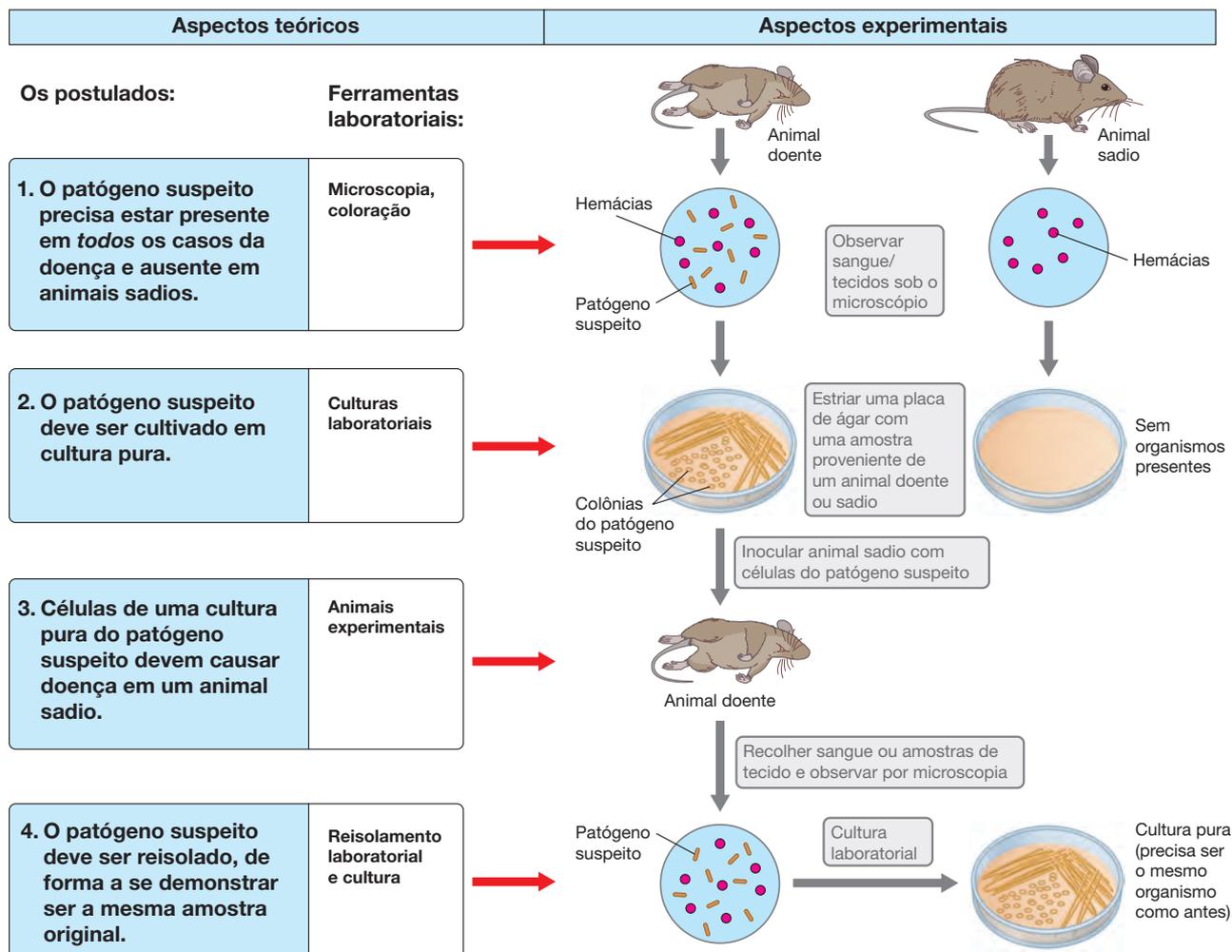
**Figura 1.19** Robert Koch. O médico microbiologista alemão recebeu os créditos por fundar a microbiologia médica e formular seus famosos postulados.

uma série de métodos simples, mas engenhosos, para obtenção e crescimento de bactérias em **culturas puras**, e muitos desses métodos são utilizados até hoje.

Koch iniciou seus trabalhos utilizando superfícies naturais, como uma fatia de batata, para a obtenção de culturas puras, entretanto, rapidamente desenvolveu meios de cultura mais confiáveis e reproduzíveis utilizando soluções nutrientes líquidas solidificadas com gelatina, e posteriormente com ágar, um polissacarídeo de algas com excelentes propriedades para esses fins. Junto com seu colega Walther Hesse, Koch observou que, quando uma superfície sólida era incubada exposta ao ar, massas de células bacterianas, chamadas de *colônias*, se desenvolviam, cada uma exibindo cores e formas características (Figura 1.21). Ele deduziu que cada colônia teria surgido a partir de uma única célula bacteriana que cresceu, e assim uma massa de células foi obtida. Koch argumentou que cada colônia correspondia a uma população de células idênticas ou, em outras palavras, a uma *cultura pura*, e Koch rapidamente percebeu que meios sólidos forneciam uma maneira fácil de obtenção de culturas puras. Richard Petri, outro associado de Koch, desenvolveu as placas transparentes de dupla face chamadas de “placas de Petri” em 1887, e esta se tornou rapidamente a ferramenta-padrão para obtenção de culturas puras.

Koch estava consciente das implicações que seus métodos para a obtenção de culturas puras apresentavam no estudo da

## OS POSTULADOS DE KOCH



**Figura 1.20** Postulados de Koch para provar a causa e o efeito em doenças infecciosas. Observe que após o isolamento do patógeno suspeito em uma cultura pura, uma cultura laboratorial do organismo deve ser capaz

tanto de iniciar a doença quanto de ser recuperada do animal doente. O estabelecimento das condições corretas para o cultivo do patógeno é essencial, pois, do contrário, este será perdido.

sistemática microbiana. Ele observou que colônias que diferiam na coloração e tamanho (Figura 1.21) eram puras e que estas células de diferentes colônias normalmente diferiam em tamanho e morfologia e, muito frequentemente, também em suas necessidades nutricionais. Koch percebeu que essas diferenças eram equivalentes aos critérios taxonômicos para a classificação de organismos superiores, como espécies de plantas e animais, e sugeriu que os diferentes tipos de bactérias deveriam ser considerados como “espécies, variedades, formas ou outra designação apropriada”. Essa observação criteriosa foi importante na aceitação relativamente rápida da microbiologia como uma ciência biológica independente, enraizada, assim como a biologia estava na classificação durante a era de Koch.

### Koch e a tuberculose

A realização científica que coroou Koch foi a sua descoberta do agente causador da tuberculose. Quando Koch iniciou esse

trabalho (1881), um sétimo de todas as mortes humanas notificadas era causado pela tuberculose (Figura 1.8). Havia uma grande suspeita de que a tuberculose era uma doença contagiosa, porém seu agente etiológico nunca havia sido detectado, nem em tecidos doentes, nem em meios de cultura. Após seus estudos bem-sucedidos de antraz, Koch estava determinado a demonstrar o agente causador da tuberculose e, para isso, empregou todos os métodos que havia cuidadosamente desenvolvido em seus estudos anteriores com o antraz: microscopia, coloração, isolamento em cultura pura e um sistema de modelo animal (Figura 1.20).

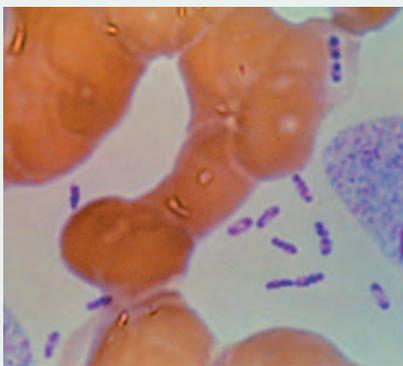
A bactéria causadora da tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*, é de difícil coloração devido ao fato de que as células de *M. tuberculosis* apresentam grandes quantidades de um lipídeo céreo em sua parede celular. Entretanto, Koch desenvolveu uma metodologia de coloração para as células de *M. tuberculosis* em amostras de tecidos pulmonares. Com esse método, ele observou as células azuis em forma de bastonetes de

# EXPLORE O MUNDO MICROBIANO

## A Peste Negra decifrada

Às vezes é impossível satisfazer aos postulados de Koch, e, nesses casos, a genômica pode ser capaz de fazer a ligação entre causa e efeito de forma diferente. Milhares de genomas microbianos foram sequenciados e revelaram que os patógenos frequentemente contêm genes “assinaturas”, que podem ser utilizados para identificá-los positivamente em uma amostra clínica sem a necessidade de se realizar uma cultura de laboratório. Essa tecnologia aprimorou de forma significativa a rapidez e acurácia do diagnóstico das doenças. Embora tais métodos genômicos estejam sendo utilizados principalmente para o diagnóstico das enfermidades em pacientes doentes, porém ainda vivos, a tecnologia também tem sido utilizada na resolução de antigos enigmas médicos em que os pacientes doentes e o patógeno recuperável já não estão mais presentes. Um excelente exemplo é a pesquisa que revelou o agente causador da “Peste Negra”.

A Peste Negra se disseminou pela Europa em meados do século XIV, com origem próxima à península da Crimeia (atual Ucrânia). Há muito tempo se pensou que a Peste Negra foi um surto maciço de peste bubônica, uma doença normalmente fatal, cujo agente causador, *Yersinia pestis* (Figura 1), foi descoberto pelo microbiologista suíço Alexandre Yersin em 1894 e posteriormente associado à doença por meio de estudos em modelo animal. No entanto, no caso da Peste Negra, a conexão com *Y. pestis* era incerta por pelo menos duas razões principais. Em primeiro lugar, esse surto disseminado e fatal da doença



**Figura 1** Micrografia óptica de células da bactéria *Yersinia pestis* em um esfregaço de sangue. Esta bactéria é o agente causador da peste bubônica.

(a Peste Negra matou cerca de um terço da população europeia) ocorreu há 660 anos, e, em segundo lugar, as descrições históricas dos sintomas das vítimas eram frequentemente ambíguas, deixando em aberto a possibilidade de que outro patógeno pudesse ter sido o responsável. Estudos genômicos confirmaram que a Peste Negra foi um grave surto de peste bubônica, e o estudo<sup>1</sup> publicado se tornou um modelo de como a genômica pode contribuir para a investigação de doenças.

Como a ligação da Peste Negra-Peste Bubônica foi confirmada? No auge do surto da Peste Negra no ano de 1349, um novo cemitério foi escavado em East Smithfield, Inglaterra. De acordo com registros de sepultamento, o cemitério foi preparado especificamente para as vítimas da Peste Negra, e em um pouco mais de um ano, o local estava cheio, preenchido com cerca de 2.500 cadáveres. Nenhum outro enterro ocorreu. Um grupo de cientistas examinou os cadáveres retirados do cemitério de East Smithfield, sabendo previamente que todos os corpos eram vítimas da Peste Negra. Devido a isso, os cientistas puderam descartar outras causas de morte<sup>1</sup>.

A peste bubônica é uma infecção do sistema linfático causada por células de *Y. pestis* transmitidas para uma pessoa pela picada de uma pulga infectada. A bactéria se multiplica nos nódulos linfáticos, formando inchaços dolorosos chamados de *bulbões*, e por meio deles as células conseguem percorrer todo o corpo, causando hemorragia e escurecimento dos tecidos (por isso o termo “Peste Negra”) (Figura 2). Utilizando amostras de dentes e ossos dos cadáveres retirados de East Smithfield, e empregando um método de “captura de DNA” para *Y. pestis* desenvolvido a partir de estudos genômicos prévios do patógeno, a equipe de pesquisa internacional<sup>1</sup> conseguiu “pescar” DNA antigo suficiente para reconstituir o genoma da bactéria que causou a Peste Negra. Comparando esse genoma com os isolados de *Y. pestis* obtidos de surtos localizados recentes, o mistério por trás dessa doença medieval devastadora foi resolvido: a Peste Negra foi, de fato, a peste bubônica.

Análises posteriores do genoma de *Y. pestis* da Peste Negra demonstraram que essa linhagem foi ancestral de todas as linhagens modernas de *Y. pestis*, e que os genomas das linhagens modernas evo-

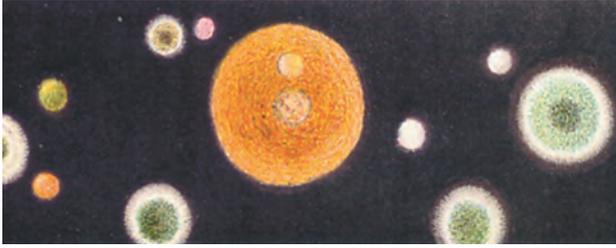


**Figura 2** Sintomas da peste bubônica. Pele enegrecida dos dedos de vítimas da peste advém de sangramento interno (hemorragia) devido a uma infecção sistêmica por *Yersinia pestis*.

luíram muito pouco da linhagem da Peste Negra durante os 660 anos intermediários. Isso aponta para a crucial importância de outros fatores – condições sanitárias extremamente precárias, um influxo de ratos (ratos abrigam as pulgas que carregam *Y. pestis*) e nutrição pobre – na intensificação dos surtos de Peste Negra em comparação com ondas de peste menos generalizadas que visitaram a Europa em épocas anteriores. De fato, a Peste Negra foi a praga pandêmica mais devastadora que o mundo já viu. E devido ao fato de que a Peste Negra atingiu uma ampla área geográfica, a linhagem de *Y. pestis* da Peste Negra foi capaz de infectar uma grande população de pulgas e ratos. A partir dessas fontes, esse patógeno feroz se tornou firmemente estabelecido e periodicamente ressurgiu desencadeando surtos localizados de peste bubônica, todos os quais podem ser rastreados de volta à bactéria da Peste Negra que provocou um estrago terrível mais de meio século atrás.

Nos Estados Unidos, alguns casos de peste são observados a cada ano. No entanto, a doença hoje traz duas preocupações. Além de lidar com a doença natural, precisamos estar atentos contra a utilização de *Y. pestis* como agente de bioterrorismo.

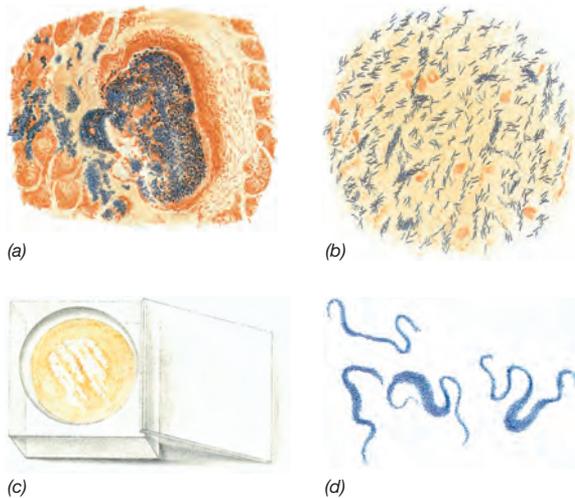
<sup>1</sup>Bos K.I., et al. 2011. A draft genome of *Yersinia pestis* from victims of the Black Death. *Nature* 478: 506–510.



**Figura 1.21** Fotografia colorida à mão, feita por Walther Hesse, de colônias formadas em ágar. As colônias incluem os bolores e bactérias obtidas durante os estudos de Hesse, do teor microbiano do ar em Berlim, Alemanha, em 1882. De Hesse W. 1884. "Ueber quantitative Bestimmung der in der Luft enthaltenen Mikroorganismen". *Mitteilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte*. 2: 182–207.

*M. tuberculosis* nos tecidos tuberculosos, mas não em tecidos saudáveis (Figura 1.22). A obtenção de culturas de *M. tuberculosis* não foi uma tarefa simples, mas, finalmente, Koch obteve sucesso no desenvolvimento de colônias desse organismo em uma solução nutriente solidificada contendo soro. Nas melhores condições, *M. tuberculosis* cresce lentamente em cultura, porém a persistência e paciência de Koch eventualmente o levaram à obtenção de culturas puras desse organismo, a partir de fontes humanas e animais.

A partir disso, Koch utilizou dos seus postulados (Figura 1.20) para obter a prova definitiva de que o organismo que ele havia isolado correspondia à verdadeira causa da tuberculose. Cobaias podem ser facilmente infectadas com *M. tuberculosis* e, ocasionalmente, morrem de tuberculose sistêmica. Koch demonstrou que as cobaias doentes



**Figura 1.22** Desenhos de *Mycobacterium tuberculosis* feitos por Robert Koch. (a) Secção de tecido pulmonar infectado mostrando células de *M. tuberculosis* (em azul). (b) Células de *M. tuberculosis* em uma amostra de escarro obtida de um paciente com tuberculose. (c) Crescimento de *M. tuberculosis* em uma placa de vidro contendo soro coagulado, armazenado no interior de uma caixa de vidro para prevenir a contaminação. (d) Células de *M. tuberculosis* retiradas da placa (c) e observadas microscopicamente; as células aparecem como formas longas, semelhantes a cordas. Desenhos originais de Koch, R. 1884. "Die Aetiologie der Tuberkulose." *Mitteilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte* 2: 1-88.

apresentavam massas de células de *M. tuberculosis* em seus tecidos pulmonares, e que culturas puras obtidas a partir desses animais transmitiam a doença a animais não infectados. Dessa forma, Koch satisfaz plenamente seus quatro postulados e a causa da tuberculose foi então compreendida. Koch anunciou sua descoberta da causa da tuberculose em 1882, e por essa realização ele foi premiado em 1905 com o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina. Koch teve muitos outros triunfos no campo crescente das doenças infecciosas, incluindo a descoberta do agente causador da cólera (a bactéria *Vibrio cholerae*), e o desenvolvimento de métodos para diagnóstico da infecção por *M. tuberculosis* (o teste cutâneo da tuberculina).

#### MINIQUESTIONÁRIO

- Como os postulados de Koch asseguram que a causa e o efeito de uma determinada doença são claramente diferenciados?
- Quais vantagens o meio sólido oferece para o isolamento de microrganismos?
- O que é uma cultura pura?

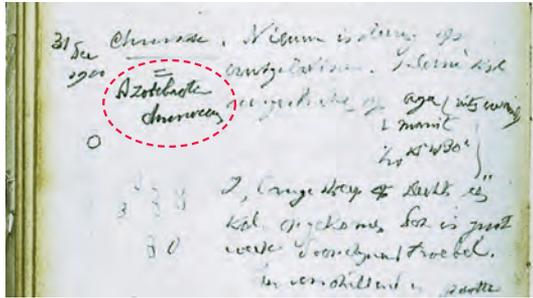
## 1.9 A ascensão da diversidade microbiana

Com o avanço da microbiologia no século XX, o seu foco inicial nos princípios básicos, métodos e aspectos médicos foi ampliado, passando a incluir estudos sobre a diversidade microbiana do solo e da água, bem como dos processos metabólicos realizados pelos organismos nesses habitats. Os principais contribuintes dessa era foram o holandês Martinus Beijerinck e o russo Sergei Winogradsky.

### Martinus Beijerinck e a técnica de cultura de enriquecimento

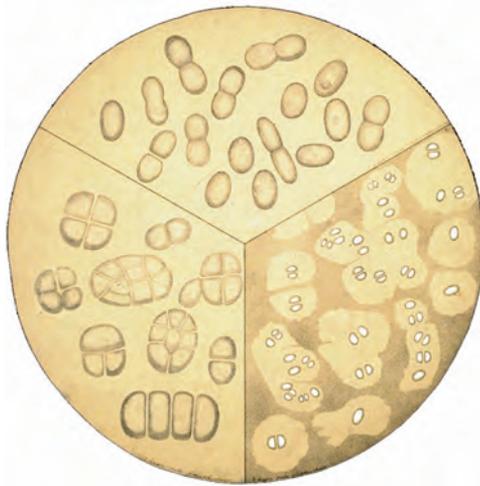
Martinus Beijerinck (1851–1931) era um professor na Delft Polytechnic School, na Holanda, especializou-se inicialmente em botânica, tendo começado sua carreira na microbiologia com o estudo das plantas. A maior contribuição de Beijerinck à microbiologia foi sua clara formulação do conceito da **técnica de cultura de enriquecimento**. Nas culturas de enriquecimento, os microrganismos são isolados a partir de amostras naturais, utilizando nutrientes e condições de incubação altamente seletivas para favorecer um grupo metabólico particular de organismos. A técnica de Beijerinck com o método de enriquecimento foi prontamente demonstrada quando, após a descoberta de Winogradsky do processo de fixação de nitrogênio, ele isolou a bactéria aeróbia fixadora de nitrogênio *Azotobacter* do solo (Figura 1.23). Bactérias fixadoras de nitrogênio podem utilizar nitrogênio atmosférico ( $N_2$ ) para a produção de substâncias nitrogenadas importantes na célula, como os aminoácidos para a produção de proteínas e os nucleotídeos para a produção de ácidos nucleicos.

A partir do uso da técnica de culturas de enriquecimento, Beijerinck isolou as primeiras culturas puras de muitos microrganismos terrestres e aquáticos, incluindo bactérias redutoras de sulfato e oxidantes de enxofre, bactérias fixadoras de nitrogênio presentes nos nódulos radiculares (Figura 1.9), bactérias produtoras de ácido láctico, algas verdes, várias bactérias anaeróbias, e muitos outros microrganismos. Além disso, em seus estudos sobre a doença do mosaico do tabaco,



Lesley Robertson e Klyver Laboratory Museum, Delft University of Technology

(a)



Lesley Robertson e Klyver Laboratory Museum, Delft University of Technology

(b)

**Figura 1.23** Martinus Beijerinck e *Azotobacter*. (a) Parte de uma página do protocolo de laboratório de M. Beijerinck, datado de 31 de dezembro de 1900, descrevendo suas observações sobre a bactéria aeróbia fixadora de nitrogênio, *Azotobacter chroococcum* (nome assinalado pelo círculo vermelho). Compare os desenhos de Beijerinck dos pares de células de *A. chroococcum* com a fotomicrografia de células de *Azotobacter*, apresentada na Figura 14.32. (b) Uma pintura feita pela irmã de M. Beijerinck, Henriëtte Beijerinck, mostrando células de *Azotobacter chroococcum*. Beijerinck utilizou essas pinturas para ilustrar suas aulas.

Beijerinck utilizou filtros seletivos para demonstrar que o agente infeccioso nesta doença (um vírus) era menor do que uma bactéria e que, de alguma forma, ele incorporava-se às células da planta hospedeira viva. Nesse importante trabalho, Beijerinck não somente descreveu o primeiro vírus, mas também os princípios básicos da virologia, os quais serão apresentados no Capítulo 8.

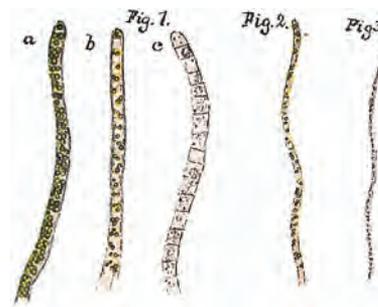
### Sergei Winogradsky, quimiolitotrofia e fixação de nitrogênio

Assim como Beijerinck, Sergei Winogradsky (1856–1953) estava interessado na diversidade bacteriana dos solos e das águas, obtendo grande sucesso no isolamento de várias bactérias de importância a partir de amostras naturais. Winogradsky estava particularmente interessado nas bactérias que realizavam os ciclos de compostos nitrogenados e sulfurosos, como bactérias nitrificantes e bactérias sulfurosas (Figura 1.24). Ele demonstrou que essas bactérias catalisam transformações químicas específicas na natureza, e propôs o importante conceito de **quimioli-**



De Microbiologie du Sol, utilizado com permissão

(a)



De Winogradsky, S. 1919. Microbiologie du Sol. Masson, Paris.

(b)

**Figura 1.24** Bactéria sulfurosa. Os desenhos originais foram feitos por Sergei Winogradsky no final de 1880, posteriormente copiados e coloridos à mão por sua esposa Hélène. (a) Bactéria fototrófica púrpura sulfurosa. As Figuras 3 e 4 mostram células de *Chromatium okenii* (compare com as fotomicrografias de *C. okenii*, nas Figuras 1.5a e 1.7a). (b) *Beggiatoa*, um quimiolitotrófico sulfuroso (compare com as Figuras 1.15 e 14.27).

**totrofia**, a oxidação de compostos *inorgânicos* para geração de energia. Posteriormente, Winogradsky demonstrou que esses organismos, os quais ele chamou de *quimiolitotróficos* (significando, literalmente, “comedores de terra”), estão disseminados na natureza e obtêm seu carbono do  $\text{CO}_2$ . Winogradsky revelou ainda que, assim como os organismos fotossintéticos, as bactérias quimiolitotróficas são *autotróficas*.

Winogradsky realizou o primeiro isolamento de uma bactéria fixadora de nitrogênio, a bactéria anaeróbia *Clostridium pasteurianum*, e como já foi mencionado, Beijerinck utilizou essa descoberta para guiar o seu isolamento de bactérias aeróbias fixadoras de nitrogênio anos depois (Figura 1.23). Winogradsky viveu até quase os 100 anos, publicando muitos artigos científicos e uma importante monografia, *Microbiologie du Sol (Microbiologia do Solo)*. Esse trabalho, um verdadeiro marco da microbiologia, contém desenhos de muitos dos organismos estudados por Winogradsky durante sua longa carreira (Figura 1.24).

#### MINIQUESTIONÁRIO

- O que significa o termo “cultura de enriquecimento”?
- O que significa o termo “quimiolitotrofia”? De que forma os quimiolitotróficos se assemelham às plantas?

## 1.10 Microbiologia moderna e genômica

No século XX, a microbiologia desenvolveu-se rapidamente, novas ferramentas de laboratório tornaram-se disponíveis, e a ciência amadureceu para a formação de novas subdisciplinas. A maioria dessas subdisciplinas apresentava ambos os aspectos, referentes às descobertas (básica), e os aspectos referentes à solução de problemas (aplicada) (Tabela 1.3). Em meados do século XX, uma nova ênfase emocionante surgiu na microbiologia com estudos das propriedades genéticas dos microrganismos. A partir dessas raízes na genética microbiana, os campos da biologia molecular, engenharia genética e genômica se desenvolveram. Essas subdisciplinas moleculares revolucionaram as ciências da vida, e originaram novas gerações de ferramentas experimentais para solucionar os mais persuasivos e complexos problemas da biologia.

Muitos avanços em microbiologia hoje são alimentados pela **genômica**, mapeamento, sequenciamento e análise de genomas. Novos métodos para sequenciamento de DNA e o aprimoramento das capacidades computacionais desencadearam enormes quantidades de dados genômicos a fim de solucionar problemas na medicina, agricultura e meio ambiente. O campo da genômica vem se desenvolvendo em ritmo acelerado e tem, por si só, gerado novas subdisciplinas altamente específicas, como *transcriptômica*, *proteômica* e

*metabolômica*; essas exploram os padrões de RNA, proteínas e vias metabólicas de expressão nas células, respectivamente. Os conceitos de genômica, transcriptômica, proteômica, metabolômica e outras “ômicas” são apresentados no Capítulo 6.

A genômica hoje está muito próxima de definir o complemento mínimo de genes necessários para uma célula permanecer viva. Com tais informações, os microbiologistas devem ser capazes de definir os pré-requisitos bioquímicos para a vida em termos genéticos precisos. Quando esse dia chegar, e é provável que ele não esteja muito longe, a criação em laboratório de uma célula viva a partir de componentes não vivos – em essência, geração espontânea – deve ser possível. Obviamente, muitas outras descobertas científicas estão reservadas para a próxima geração de microbiologistas, e sua jornada continua por este livro o fará compreendê-las e apreciá-las. Boa sorte e bem-vindo ao emocionante campo da microbiologia!

### MINIQUESTIONÁRIO

- Identifique a subdisciplina da microbiologia que trata de cada um destes temas: metabolismo, enzimologia, ácidos nucleicos e síntese de proteínas, microrganismos e seus ambientes naturais, classificação microbiana, herança de características, complementos gênicos de diferentes organismos.

**Tabela 1.3** As principais subdisciplinas da microbiologia

Subdisciplina	Foco
<b>I. Ênfases básicas<sup>a</sup></b>	
Fisiologia microbiana	Nutrição, metabolismo
Genética microbiana	Genes, hereditariedade e variação genética
Bioquímica microbiana	Enzimas e reações químicas nas células
Sistemática microbiana	Classificação e nomenclatura
Virologia	Vírus e partículas subvirais
Biologia molecular	Ácidos nucleicos e proteínas
Ecologia microbiana	Diversidade microbiana e atividade em habitats naturais; biogeoquímica
Genômica	Sequenciamento genômico e análises comparativas
<b>II. Ênfases aplicadas<sup>a</sup></b>	
Microbiologia médica	Doenças infecciosas
Imunologia	Sistema imune
Microbiologia agrícola/do solo	Diversidade microbiana e processos no solo
Microbiologia industrial	Produção em larga escala de antibióticos, álcool e outros produtos químicos
Biotecnologia	Produção de proteínas humanas por microrganismos geneticamente modificados
Microbiologia aquática	Processos microbianos em águas e efluentes, segurança da água potável

<sup>a</sup>Nenhuma destas subdisciplinas é dedicada inteiramente a ciência básica ou aplicada. No entanto, as subdisciplinas listadas em I tendem a ser mais focadas nas descobertas em si, e aquelas listadas em II, mais focadas na resolução de problemas ou na produção de produtos comerciais.

## CONCEITOS IMPORTANTES

**1.1** • Os microrganismos são organismos microscópicos unicelulares essenciais para o bem-estar e funcionamento de outras formas de vida, bem como do planeta. Como ciência, a Microbiologia possui componentes básicos e aplicados, capazes de gerar novos conhecimentos e solucionar questões, respectivamente.

**1.2** • Como as casas, as células são formadas de muitas partes, de modo que todas interagem para produzir um organismo vivo intacto. Células procarióticas e eucarióticas diferem em sua arquitetura celular, e as características de um organismo são definidas pelo seu complemento de genes – seu genoma. Muitas atividades são realizadas por todas as células, incluindo metabolismo, crescimento e evolução.

**1.3** • Populações microbianas diversas foram disseminadas na Terra bilhões de anos antes dos organismos superiores aparecerem, e as cianobactérias eram particularmente importantes por oxigenarem a atmosfera. *Bacteria*, *Archaea* e *Eukarya* são as principais linhagens filogenéticas (domínios) das células.

**1.4** • Microrganismos vivem em populações que interagem com outras populações formando comunidades microbianas. As atividades dos microrganismos em comunidades microbianas podem afetar consideravelmente as propriedades químicas e físicas de seus habitats. A biomassa microbiana na Terra excede aquela dos organismos superiores, embora a maioria das células microbianas surpreendentemente residir na subsuperfície profunda terrestre e oceânica.

**1.5** • Os microrganismos podem ser tanto benéficos quanto prejudiciais para os seres humanos, embora a quantidade de microrganismos benéficos (ou até mesmo essenciais) seja bem maior do que os prejudiciais.

Agricultura, alimentação, energia e meio ambiente são todos impactados de diversas maneiras pelos microrganismos.

**1.6** • Robert Hooke foi o primeiro a descrever os microrganismos, e Antoni van Leeuwenhoek foi o primeiro a descrever as bactérias. Ferdinand Cohn fundou o campo da bacteriologia e descobriu os endósporos bacterianos.

**1.7** • Louis Pasteur criou experimentos engenhosos provando que organismos vivos não surgem espontaneamente a partir de matéria inanimada. Pasteur desenvolveu muitos conceitos e técnicas centrais para a ciência da microbiologia, incluindo a esterilização, além de ter desenvolvido um número fundamental de vacinas para seres humanos e outros animais.

**1.8** • Robert Koch desenvolveu um conjunto de critérios denominados postulados de Koch para conectar causa e efeito nas doenças infecciosas. Koch também desenvolveu os primeiros meios confiáveis e reproduzíveis para obtenção e manutenção de microrganismos em cultura pura.

**1.9** • Martinus Beijerinck e Sergei Winogradsky exploraram o solo e a água em busca de microrganismos capazes de realizar processos naturais importantes, como a ciclagem de nutrientes e a biodegradação de substâncias específicas. Fora do seu estudo veio a técnica de cultura de enriquecimento e os conceitos de quimiolitotrofia e fixação de nitrogênio.

**1.10** • Da metade até a última parte do século XX, surgiram várias subdisciplinas básicas e aplicadas da microbiologia. Essas abriram caminho para a era contemporânea da microbiologia molecular, com as ciências genômicas atualmente no centro desse palco.

## REVISÃO DOS TERMOS-CHAVE

**Citoplasma** porção fluida de uma célula, limitada pela membrana celular.

**Comunicação** interação entre as células por meio de sinais químicos.

**Comunidade microbiana** duas ou mais populações de células que coexistem e interagem em um habitat.

**Crescimento** em microbiologia, um aumento no número de células com o tempo.

**Cultura pura** cultura contendo um único tipo de microrganismo.

**Diferenciação** modificação dos componentes celulares para formar uma nova estrutura, como um esporo.

**Domínio** uma das três linhagens evolucionárias principais das células: *Bacteria*, *Archaea* e *Eukarya*.

**Ecologia microbiana** estudo dos organismos em seus ambientes naturais.

**Ecossistema** associação entre os organismos e seu meio ambiente abiótico.

**Enzima** catalisador proteico (ou, em alguns casos, RNA) que atua aumentando a velocidade das reações químicas.

**Estéril** ausência de todos os organismos vivos (células) e vírus.

**Eucariota** uma célula contendo um núcleo envolvido por membrana e diversas outras organelas também envolvidas por membrana; *Eukarya*.

**Evolução** descendência com modificação que leva à geração de novas formas ou espécies.

**Extremófilos** microrganismos que habitam ambientes inóspitos para formas de vida superiores, como ambientes que são extremamente quentes ou frios, ou que são ácidos, alcalinos, ou extremamente salgados.

**Genoma** o conjunto completo dos genes de um organismo.

**Genômica** o mapeamento, sequenciamento e análise de genomas.

**Geração espontânea** hipótese de que os organismos vivos poderiam ser originados a partir de matéria inanimada.

**Habitat** ambiente onde uma população microbiana é encontrada.

**Intercâmbio genético** a transferência gênica ou o recebimento de genes entre células procarióticas.

**Macromoléculas** um polímero de unidades monoméricas que inclui as proteínas, os ácidos nucleicos, os polissacarídeos e os lipídeos.

**Membrana citoplasmática** barreira semipermeável que separa o interior da célula (citoplasma) do meio ambiente.

**Metabolismo** todas as reações bioquímicas que ocorrem em uma célula.

**Microorganismo** organismo microscópico, consistindo de única célula, ou conjunto de células, incluindo os vírus.

**Motilidade** o movimento das células por meio de alguma forma de autopropulsão.

**Núcleo** estrutura envolvida por membrana nas células eucarióticas que contém o DNA do genoma da célula.

**Nucleoide** massa agregada de DNA que compõe o cromossomo das células procarióticas.

**Organelas** estrutura envolvida por membrana dupla, como as mitocôndrias, encontrada nas células eucariotas.

**Parede celular** uma rígida parede presente fora da membrana citoplasmática; confere força estrutural à célula e previne a lise osmótica.

**Patógeno** microrganismo causador de doença.

**Postulados de Koch** conjunto de critérios para provar que um determinado microrganismo causa uma determinada doença.

**Procariota** célula que carece de uma membrana envolvendo o núcleo e outras organelas; bactéria ou arqueia.

**Quimiolitotrofia** forma de metabolismo na qual a energia é gerada por meio da oxidação dos compostos inorgânicos.

**Ribossomos** estruturas compostas por RNAs e proteínas, nos quais novas proteínas são sintetizadas.

**Técnica de cultura de enriquecimento** método de isolamento de microrganismos específicos a partir da natureza, utilizando-se meios de cultura e condições de incubação específicas.

## QUESTÕES PARA REVISÃO

- Quais são os dois temas principais da microbiologia e como eles diferem em seus respectivos focos? (Seção 1.1)
- Como as células procarióticas e eucarióticas podem ser diferenciadas? Liste as principais atividades executadas pelas células e, em cada caso, descreva porque essa atividade ocorre. (Seção 1.2)
- Por que o surgimento das cianobactérias alterou definitivamente as condições na Terra? Quantos domínios da vida existem na Terra e como eles estão relacionados? (Seção 1.3)
- O que é um ecossistema? Que efeitos os microrganismos podem exercer em seus ecossistemas? (Seção 1.4)
- Como você poderia convencer um amigo de que os microrganismos são muito mais que meros agentes causadores de doenças? (Seção 1.5)
- Por quais contribuições Robert Hooke e Antoni van Leeuwenhoek são lembrados na microbiologia? Em que época esses cientistas estavam ativos? (Seção 1.6)
- Explique o princípio associado ao uso do frasco de Pasteur nos estudos sobre a geração espontânea. Por que os resultados desse experimento foram inconsistentes com a teoria da geração espontânea? (Seção 1.7)
- O que se entende por uma cultura pura e como esta pode ser obtida? Por que as culturas puras são importantes para a microbiologia médica e outras áreas da microbiologia? (Seção 1.8)
- O que são os postulados de Koch e como eles influenciaram o desenvolvimento da microbiologia? Por que eles ainda são relevantes atualmente? (Seção 1.8)
- Qual foi o interesse microbiológico principal de Martinus Beijerinck e Sergei Winogradsky? Pode-se dizer que ambos descobriram a fixação de nitrogênio. Explique. (Seção 1.9)
- Selecione uma subdisciplina principal da microbiologia de cada uma das duas categorias principais da Tabela 1.3. Por que você acredita que a subdisciplina é “básica” ou “aplicada”? (Seção 1.10)

## QUESTÕES APLICADAS

- Os experimentos de Pasteur envolvendo a geração espontânea contribuíram para a metodologia da microbiologia, a compreensão da origem da vida e para as técnicas de preservação de alimentos. Explique, resumidamente, como os experimentos de Pasteur afetaram cada um desses tópicos.
- Descreva as linhas de evidências que Robert Koch utilizou para associar definitivamente a bactéria *Mycobacterium tuberculosis* à doença tuberculose. Como a sua prova poderia ter falhado, se qualquer uma das ferramentas por ele desenvolvidas para o estudo das doenças bacterianas não estivesse disponível para seu estudo da tuberculose?
- Imagine que todos os microrganismos desaparecessem subitamente da Terra. Com base no que você aprendeu neste capítulo, por que você suporia que todos os animais acabariam desaparecendo da Terra? Por que as plantas desapareceriam? Se, ao contrário, todos os organismos superiores desaparecessem subitamente, qual aspecto da Figura 1.4a sugere que um destino similar não ocorreria aos microrganismos?