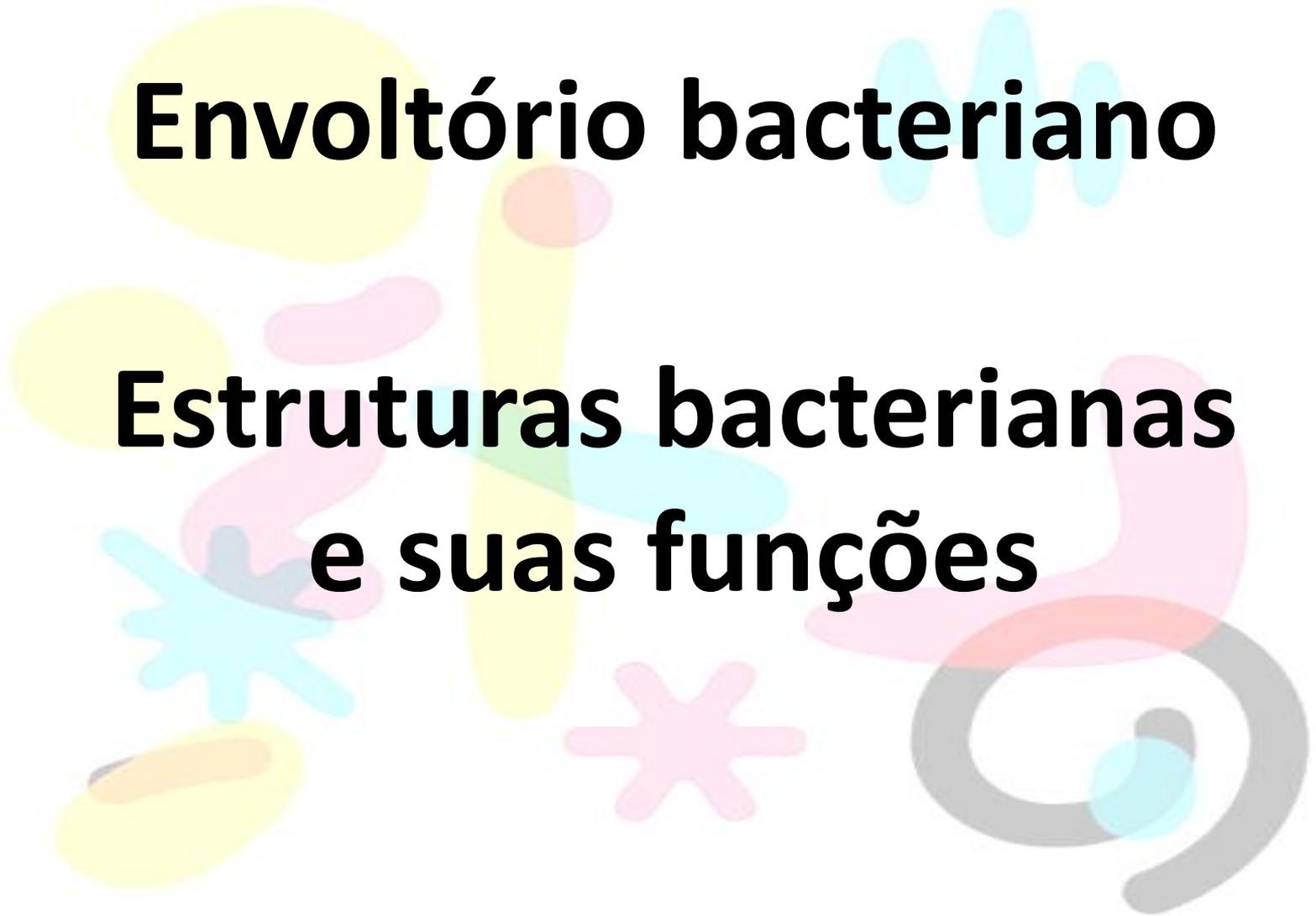


# **Envoltório bacteriano**

## **Estruturas bacterianas e suas funções**

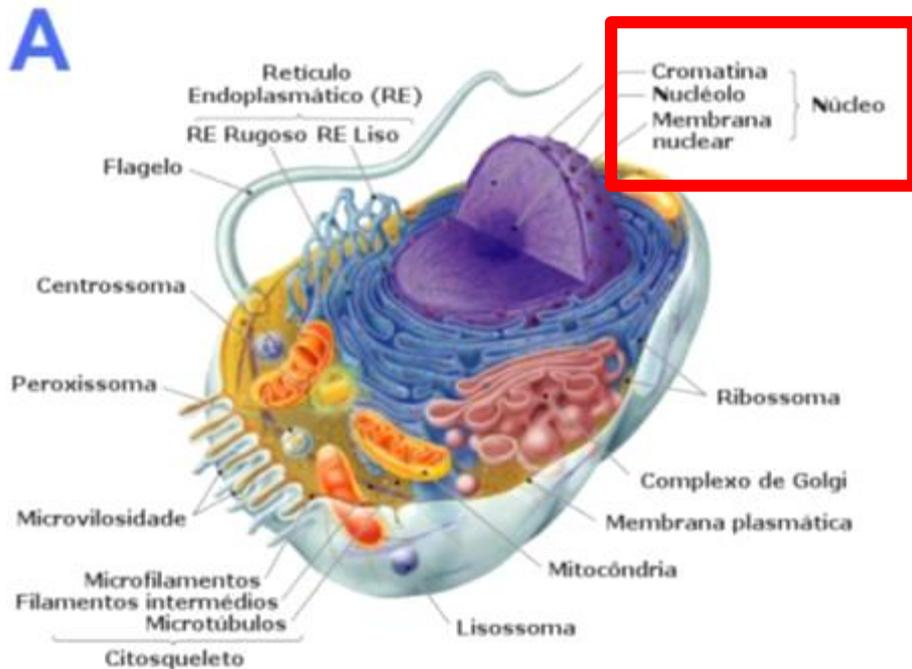


# Tópicos

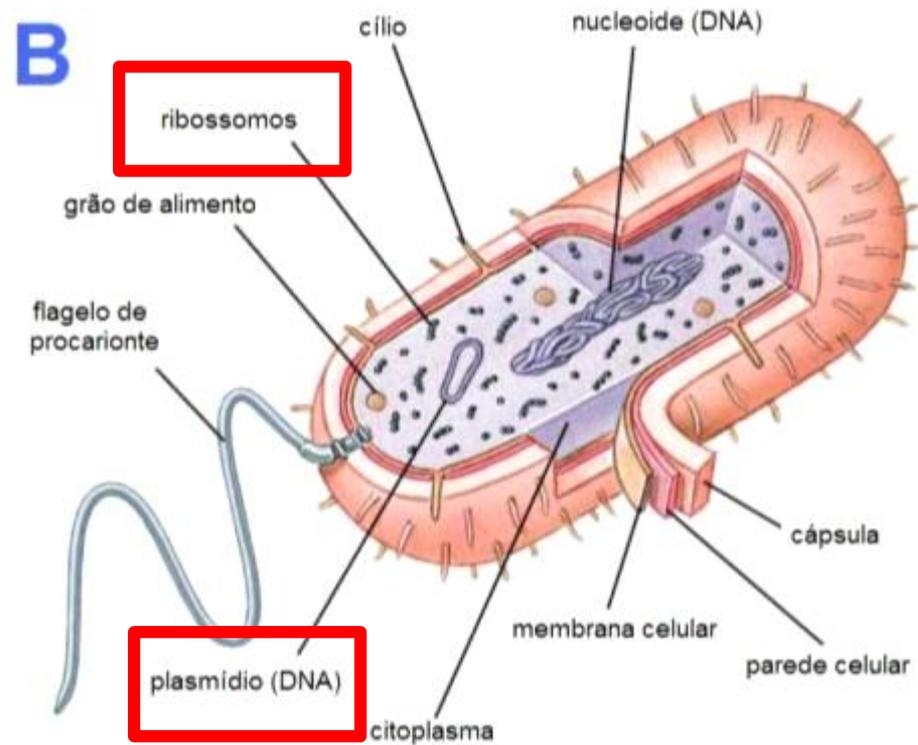
- 1. Comparação entre Procariotos x Eucariotos**
- 2. Estruturas da célula bacteriana e suas funções**
- 3. O que é Envoltório bacteriano e qual a sua importância?**
- 4. Comparar e diferenciar as paredes celulares das bactérias Gram positivas, Gram negativas, arqueobactérias e micobactérias**
- 5. Lipopolissacarídeo (LPS)**
- 6. Outras estruturas bacterianas**
- 7. Morfologia bacteriana**

# 1. Comparação entre os dois tipos celulares

## Eucarioto



## Procarioto

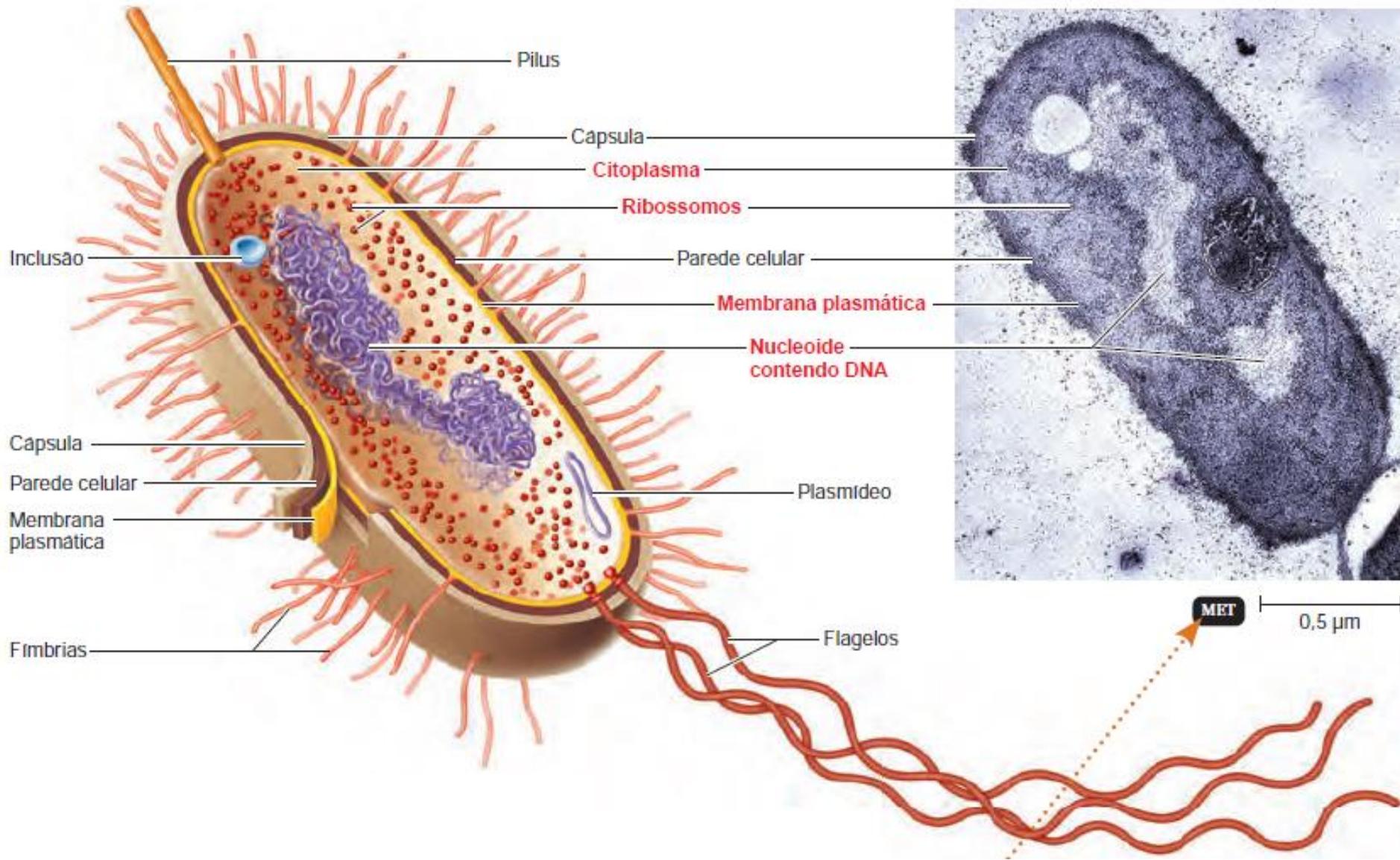


Estruturas internas mais simples, desprovidas de organelas envoltas por membranas

# Comparação entre os dois tipos celulares - estruturas

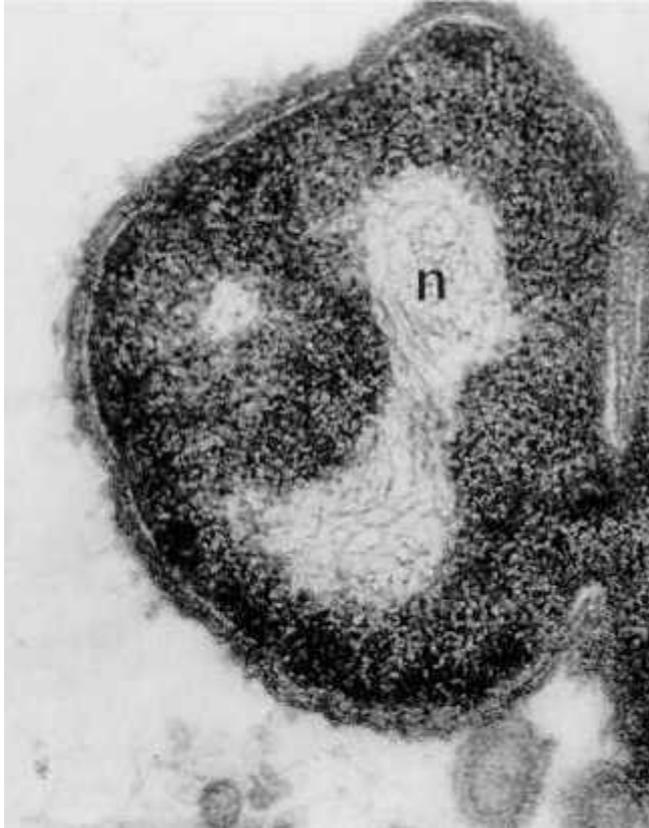
<b><u>PROCARIOTO</u></b>	<b><u>EUCARIOTO</u></b>
Bactéria e Cianobactérias.	Protistas fungos animais e vegetais.
Aeróbios e anaeróbios	Aeróbios
Poucos ou sem organelas	Muitas organelas
DNA circular no Citosol	DNA linear restrito ao núcleo, com exons.
RNA produzido no Citosol	RNA produzido no núcleo.
Célula sem citoesqueleto	Celular com citoesqueleto
Unicelular	Pluricelular com diferenciação e divisão em tecidos

# 2- Estruturas da célula bacteriana

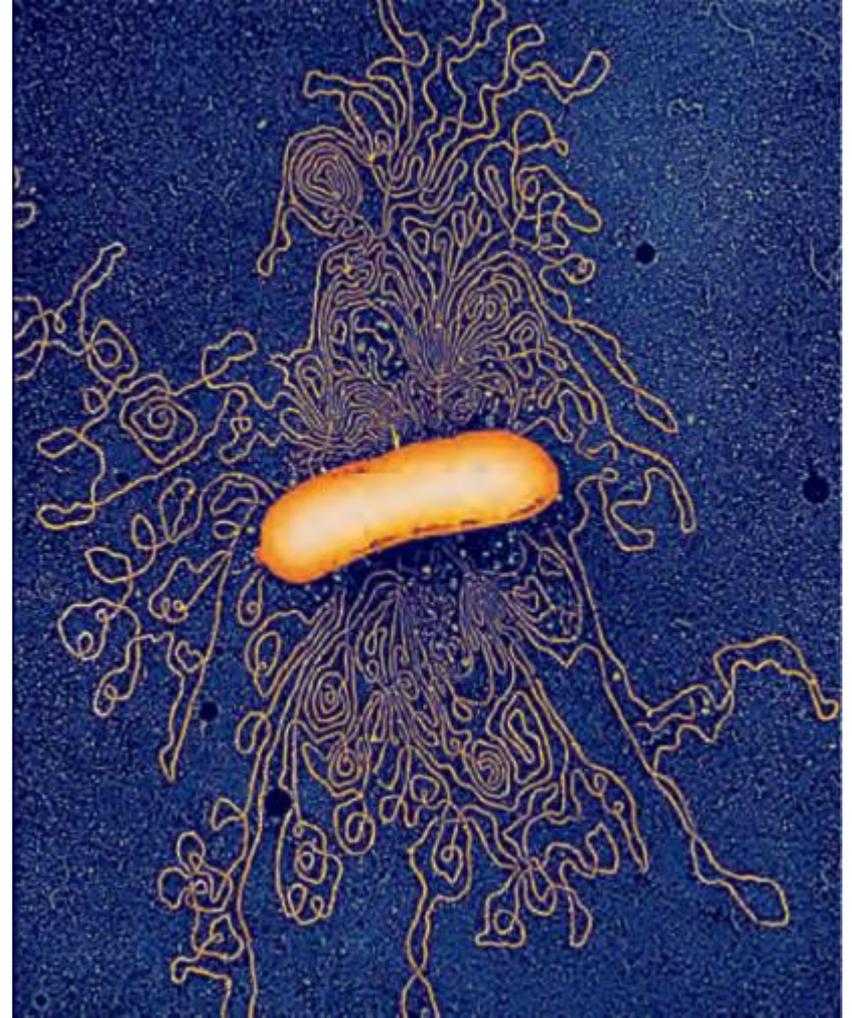


# MATERIAL GENÉTICO DA BACTÉRIA

## DNA

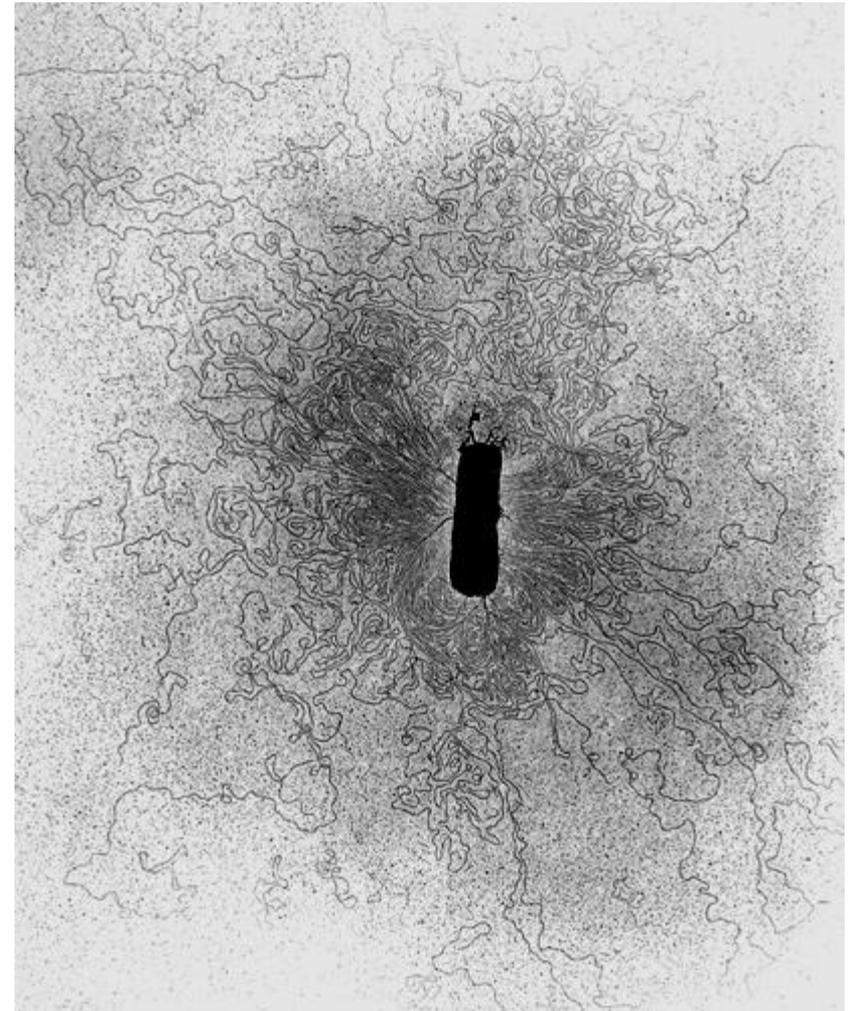


**Cromossomo  
(Nucleóide)**



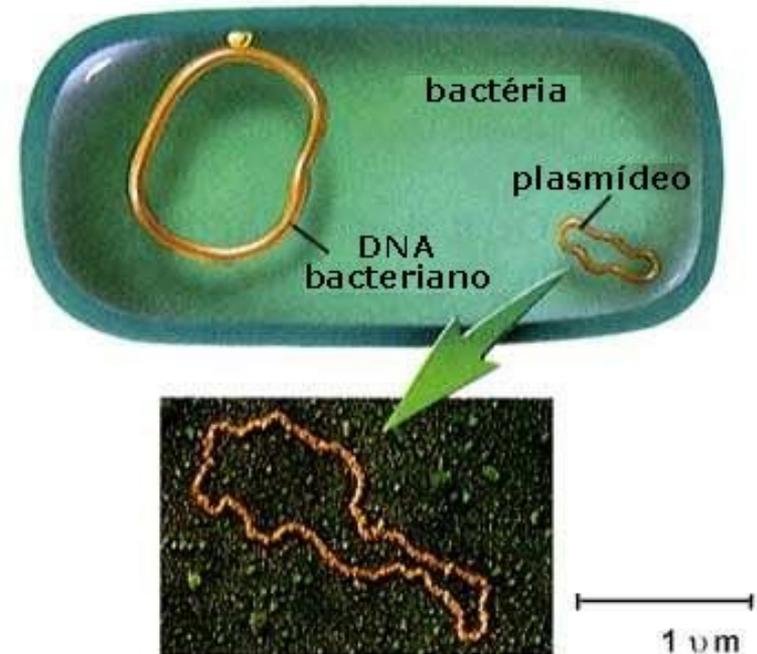
# DNA OU NUCLEÓIDE BACTERIANO

- Uma única molécula
- Circular
- Fita dupla
  - Superenovelado
- Não é delimitado por membrana
- Características genotípicas e fenotípicas essenciais às bactérias



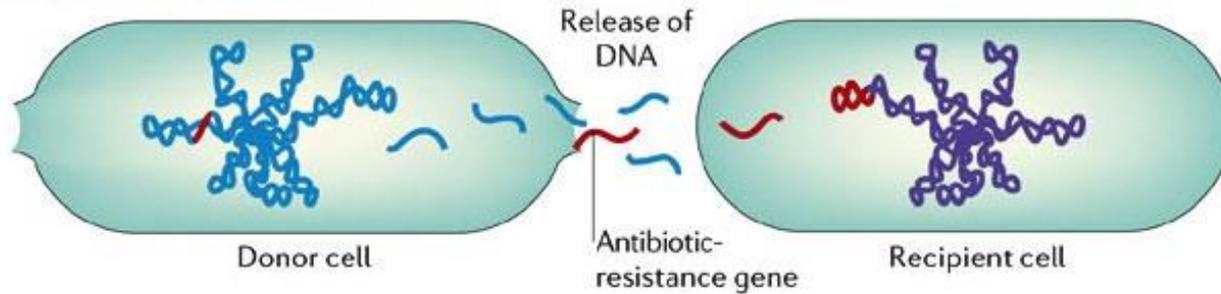
# PLASMÍDEO

- Elemento genético extracromossomal
- Fita dupla \* pequeno
- Replicação independente do nucleóide
- Número variável
- Contêm genes que conferem propriedades especiais às células:
  - Resistência a antimicrobianos
  - Proteínas efetoras
  - Síntese de nutrientes
  - Tolerância a metais tóxicos
- Não é essencial à vida bacteriana → VANTAGENS!!!
- Biotecnologia

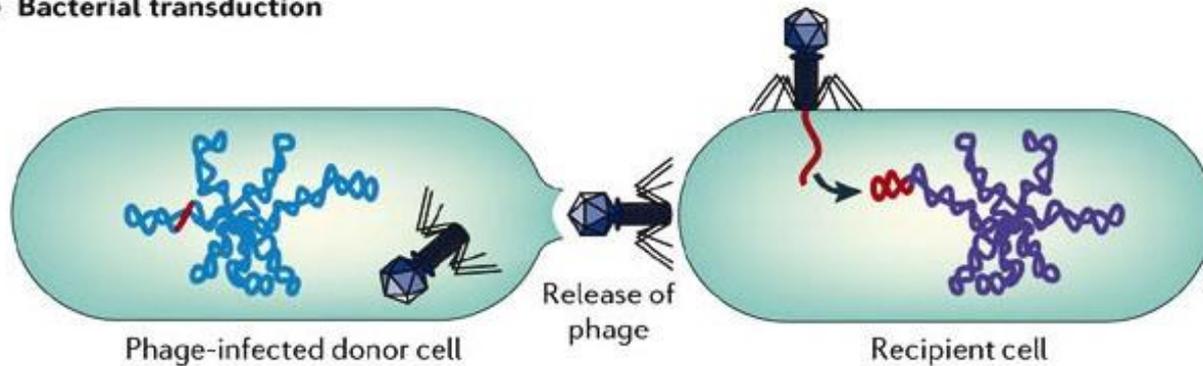


# TRANSFERÊNCIA DE MATERIAL GENÉTICO

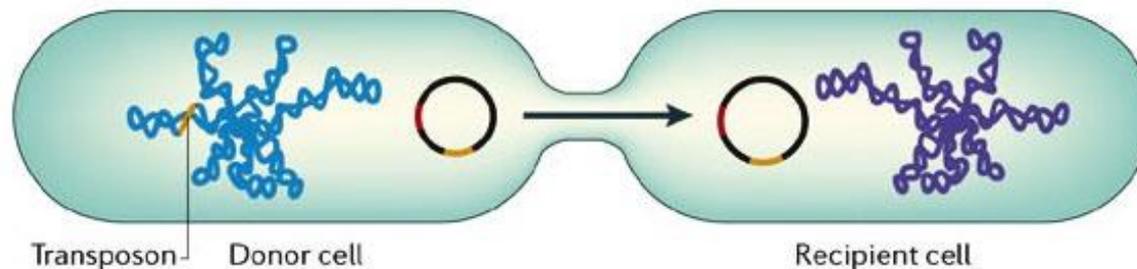
## a Bacterial transformation



## b Bacterial transduction

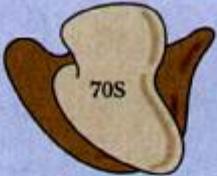


## c Bacterial conjugation



# RIBOSSOMOS

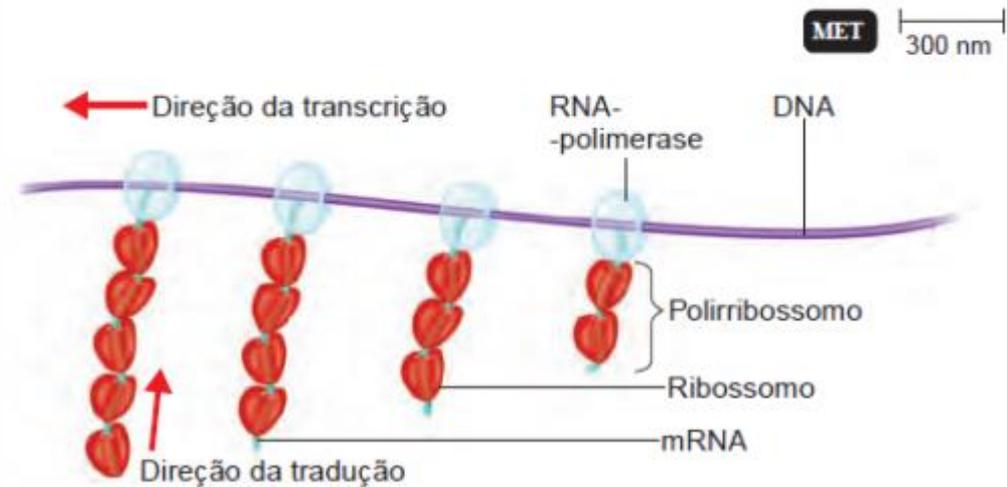
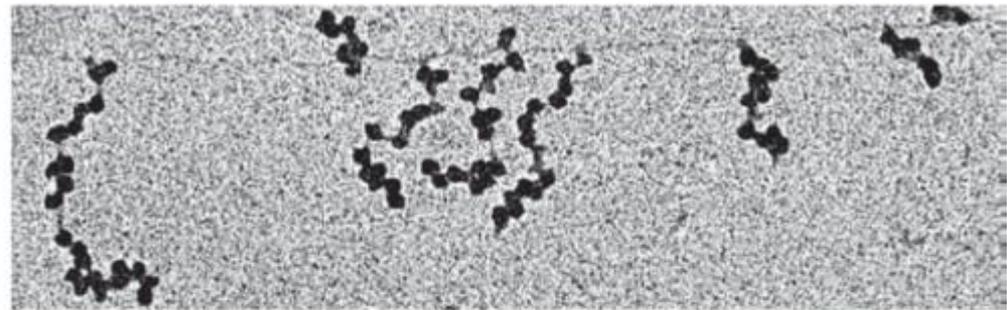
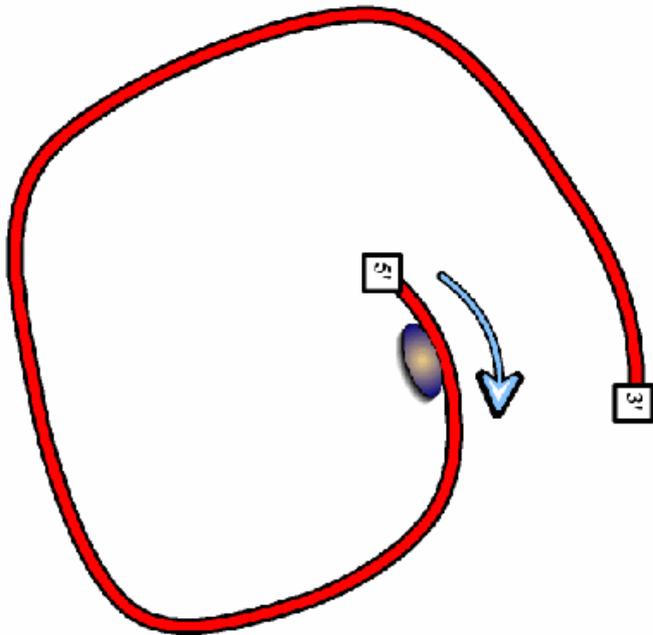
- Síntese de proteínas
- Aspecto granular no citoplasma

EUKARYOTIC RIBOSOMES (Rat)		PROKARYOTIC RIBOSOMES ( <i>E. coli</i> )		
<b>Ribosome</b>	 ( $4.22 \times 10^6$ D)	 ( $2.52 \times 10^6$ D)		
<b>Subunits</b>	 ( $1.4 \times 10^6$ D)	 ( $2.82 \times 10^6$ D)	 ( $0.93 \times 10^6$ D)	 ( $1.59 \times 10^6$ D)
<b>RNA</b>	18S RNA (1874 nucleotides)	28S + 5.8S RNA (4718 + 160 nucleotides) 5S RNA (120 nucleotides)	16S RNA (1542 nucleotides)	23S RNA (2904 nucleotides) 5S RNA (120 nucleotides)
<b>Protein</b>	33 proteins	49 proteins	21 proteins	31 proteins

Coeficiente de sedimentação (unidade: Svedberg, S) por ultracentrifugação.

# RIBOSSOMOS

- Síntese de proteínas
- Aspecto granular no citoplasma



# RIBOSSOMOS PROCARIOTOS

estreptomicina  
gentamicina

eritromicina  
cloranfenicol



+



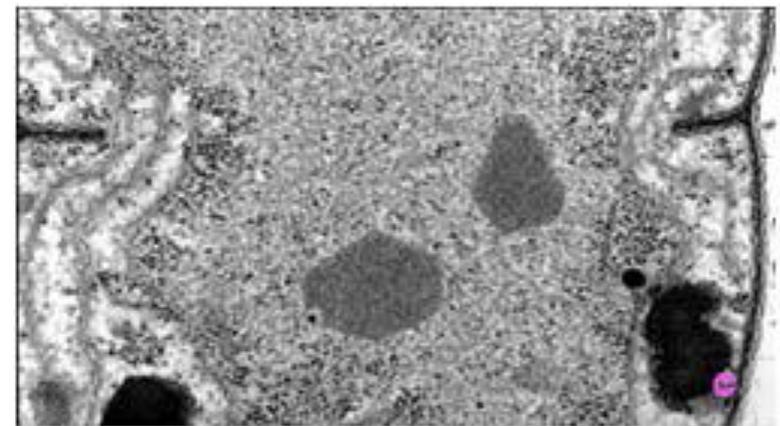
(a) Subunidade menor

(b) Subunidade maior

(c) Ribossomo completo 70S

# Inclusões bacterianas

- Reservatório de constituintes estruturais
- Armazenamento de energia
- Vários tipos
- Insolúveis
  - não elevam a pressão osmótica
  - vantagem



# Inclusões – depósitos de reserva

**Grânulos metacromáticos** – reserva de fosfato inorgânico (polifosfato) → Volutina

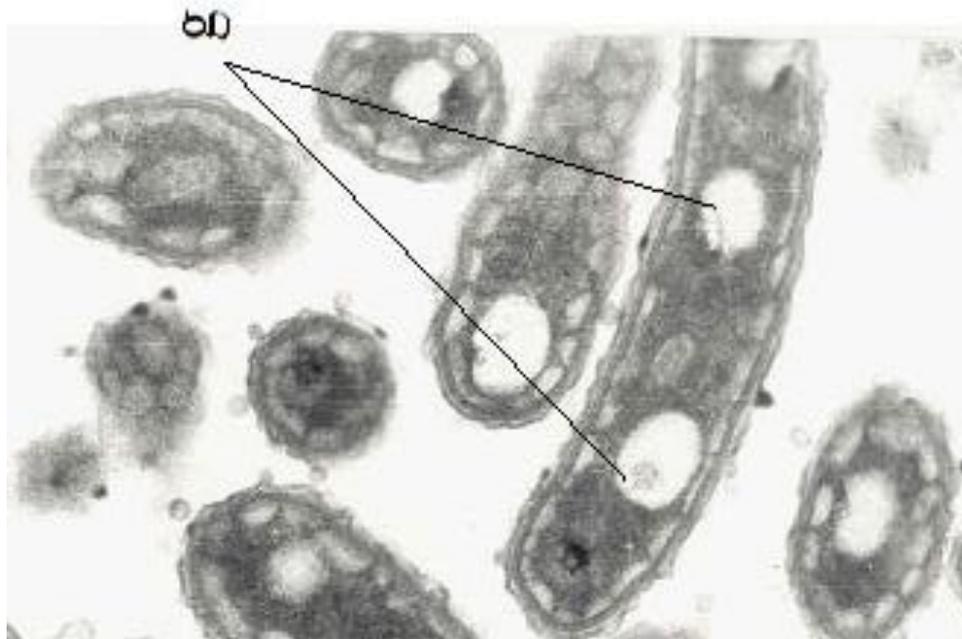


*Corynebacterium diphtheriae*

# Inclusões – depósitos de reserva

**Grânulos polissacarídicos** - glicogênio e amido

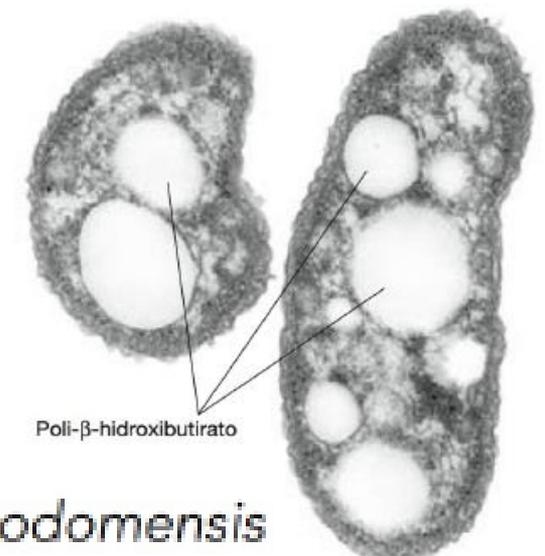
Na presença de iodo, os grânulos de glicogênio ficam de cor marrom--avermelhada, e os grânulos de amido ficam azuis.



*Chlorobium limicola*

# Inclusões – depósitos de reserva

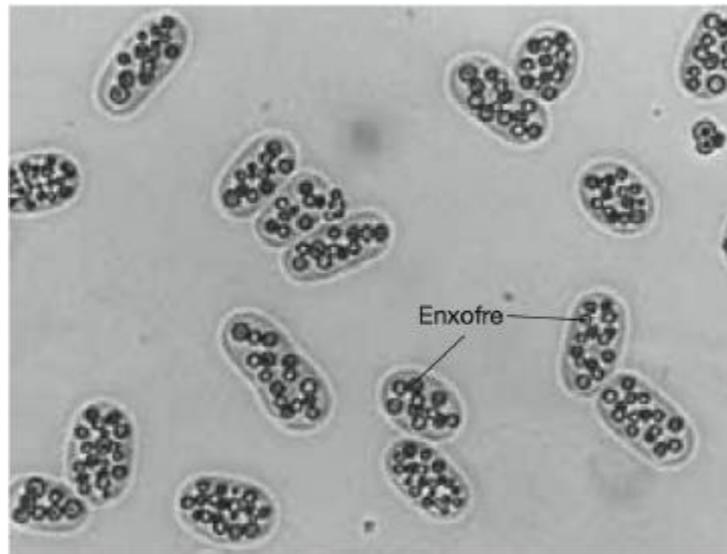
- **Inclusões lipídicas** – Armazenamento de carbono.
  - ✓ Polímero **ácido poli- $\beta$ -hidroxibutírico (PHB)**.
  - ✓ Nome mais genérico  $\rightarrow$  **poli- $\beta$ -hidroxialcanoato (PHB)**
  - ✓ Exp: *Mycobacterium*, *Bacillus*, *Azotobacter*, *Spirillum* e outros gêneros.



*Rhodovibrio sodomensis*

# Inclusões – depósitos de reserva

- **Grânulos de enxofre** → bactérias sulfóreas
- ✓ Oxidação do enxofre e compostos contendo enxofre.
- ✓ Exp: gênero *Thiobacillus*



*Isochromatium buderi*

# CITOPLASMA

- **Solução aquosa;**
- **Membrana citoplasmática;**
- **Partículas insolúveis:**
  - **Ribossomos;**
  - **Nucleóide;**
- **Reações químicas;**

**Água**

**Sais e íons inorgânicos**

**Açúcares**

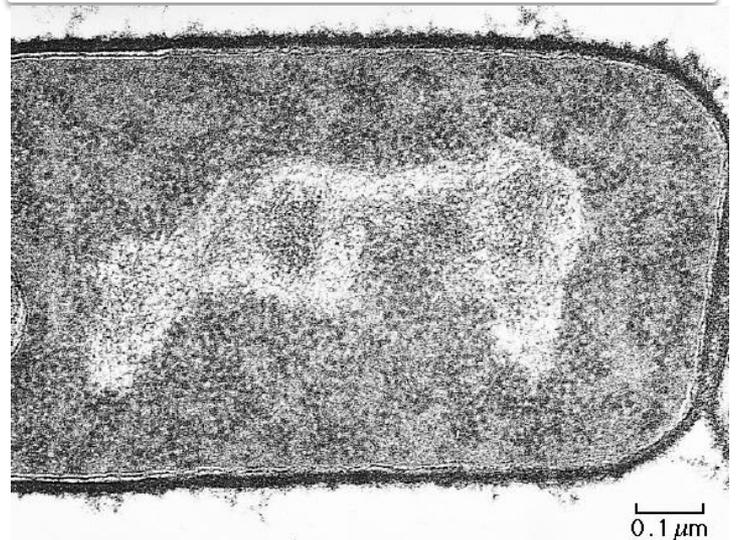
**Aminoácidos Nucleotídeos**

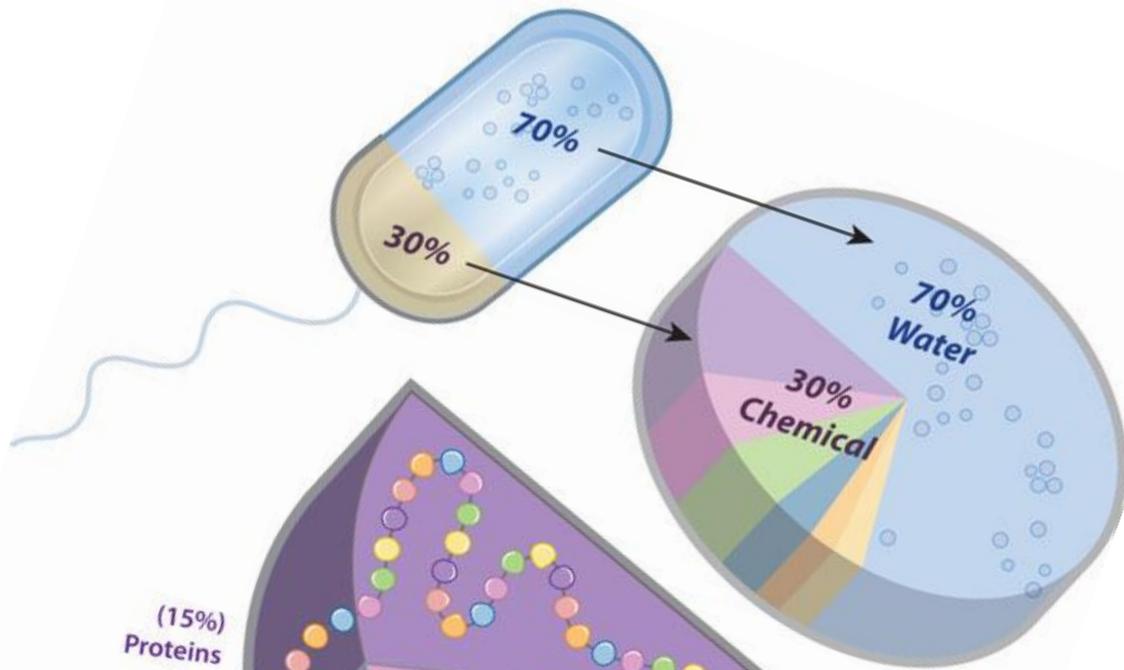
**Vitaminas**

**Coenzimas**

**Enzimas**

**Outros compostos solúveis**





(15%)  
Proteins

(4%) Small  
molecules

(6%) RNA

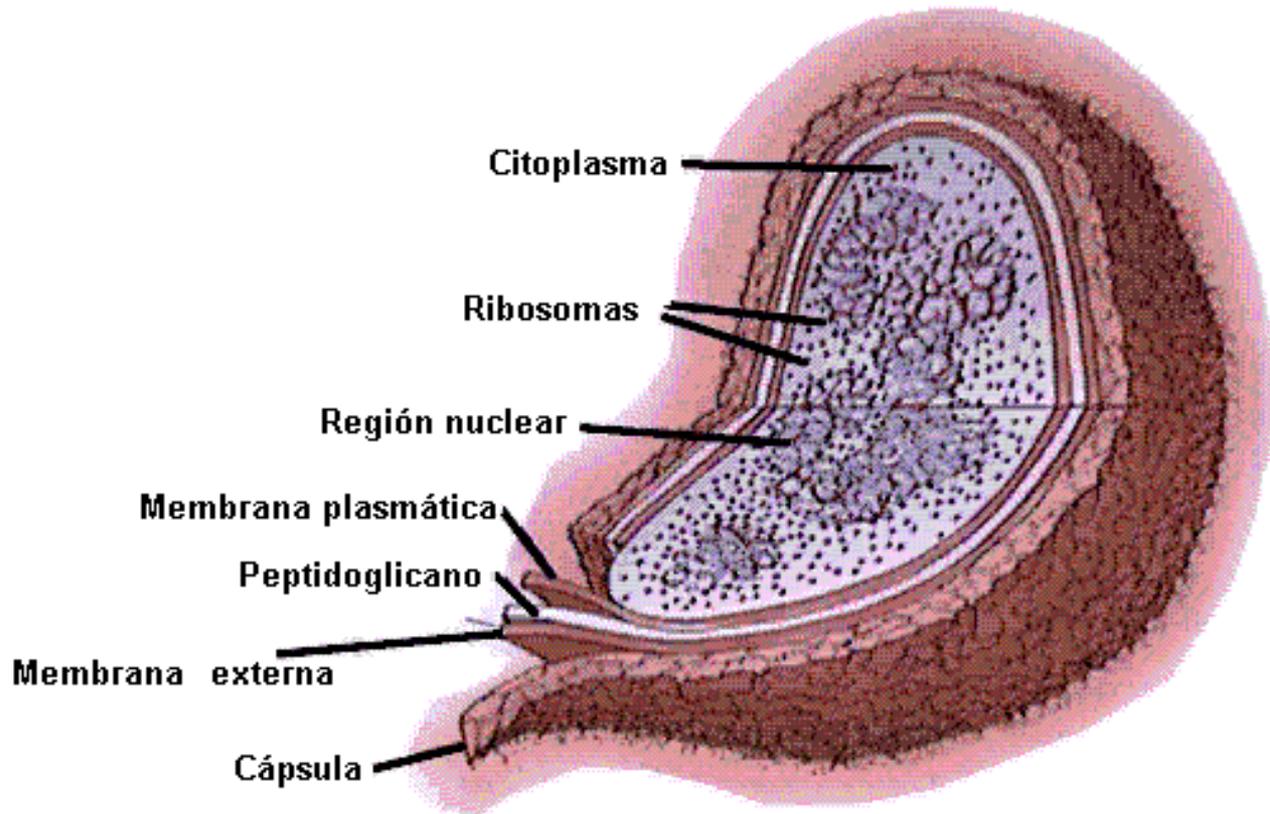
(2%) Phospholipids

(1%) DNA

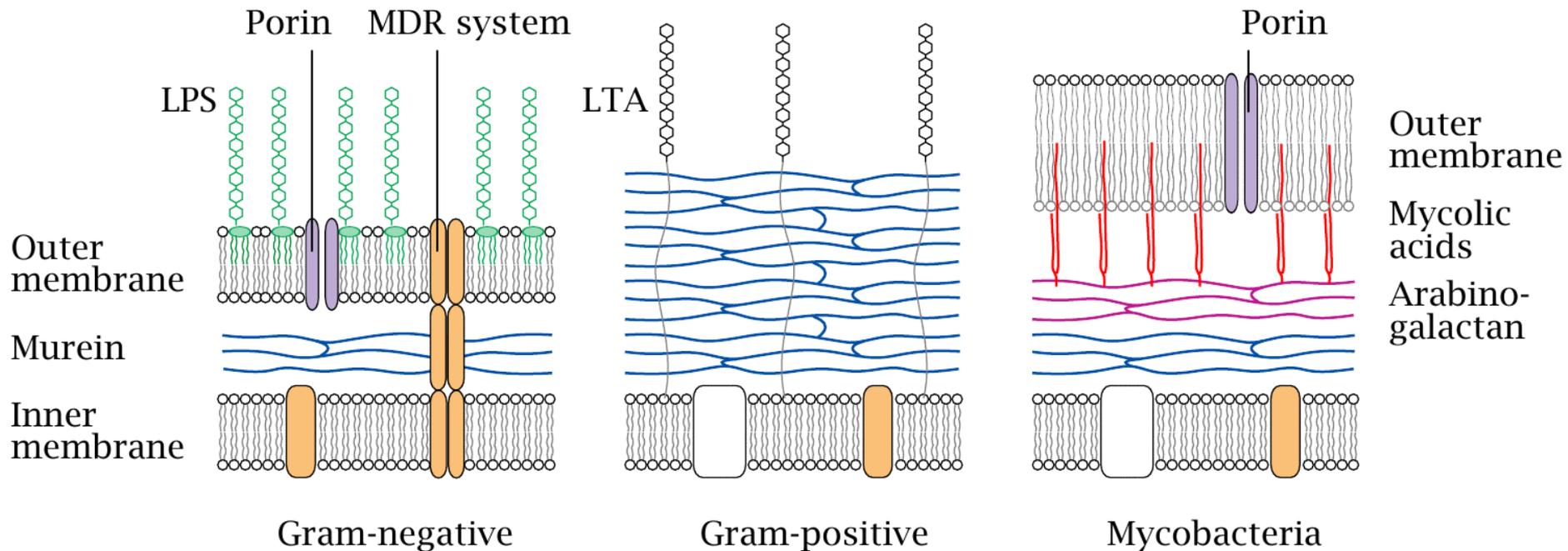
(2%) Polysaccharides

# 3- O que é Envoltório bacteriano e qual a sua importância?

- Conjunto de membranas e estruturas macromoleculares que delimitam a fronteira entre o meio intracelular e o ambiente.

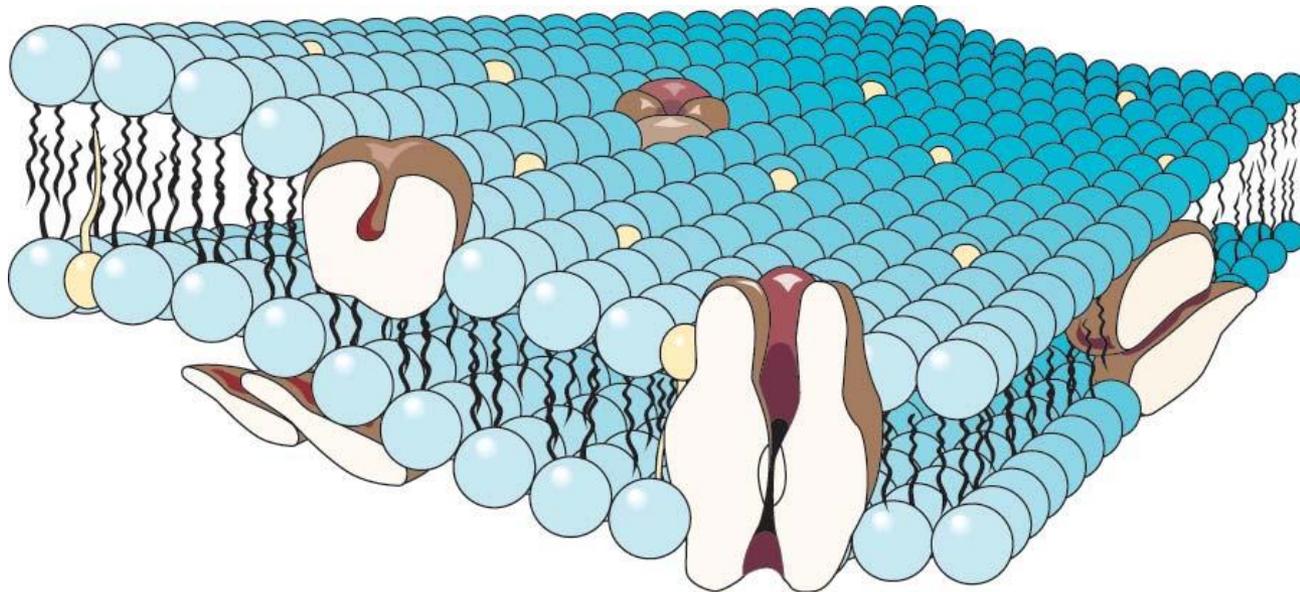


# Envoltório bacteriano

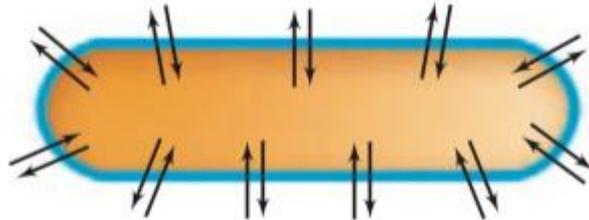


# MEMBRANA CITOPLASMÁTICA

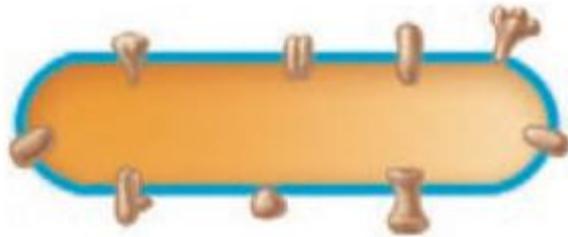
- Delgada – bicamada fosfolipídica
- Fluida → óleo de baixa viscosidade
- Vital – integridade celular
- Citoplasma ← → meio extracelular
- Barreira de permeabilidade altamente seletiva



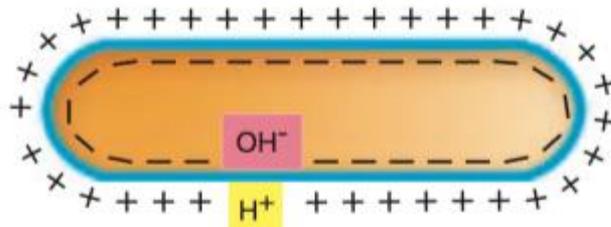
# MEMBRANA CITOPLASMÁTICA



- 1. Barreira de permeabilidade:** impede o extravasamento e atua como uma porta para o transporte de nutrientes para dentro e fora da célula



- 2. Ancoragem de proteínas:** sítio de muitas proteínas envolvidas no transporte, bioenergética e quimiotaxia



- 3. Conservação de energia:** sítio de geração e utilização da força próton motiva

## Produção de ENERGIA

Citocromos;

Cadeia de transporte de elétrons;

## Duplicação DNA

## Secreção

Enzimas → macromoléculas;

Toxinas

Bacteriocinas

## Biosíntese

Lipídeos da membrana

Macromoléculas

Peptidoglicanos

Ácidos teicóicos

Lipopolissacarídeos

**PAREDE CELULAR**

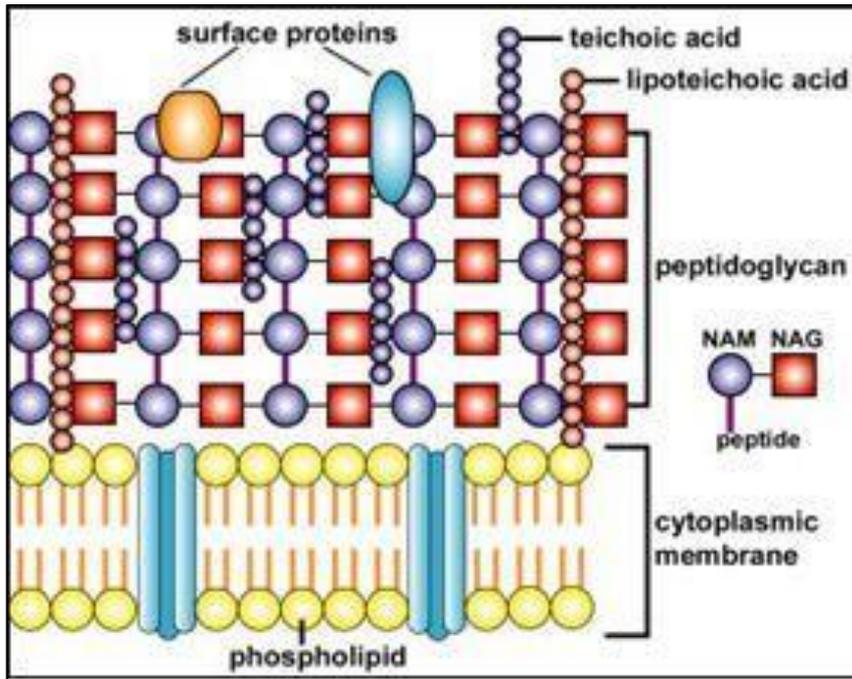
4- Comparar e diferenciar as paredes celulares das bactérias Gram positivas, Gram negativas, arqueobactérias e micobactérias

# Parede celular - importância

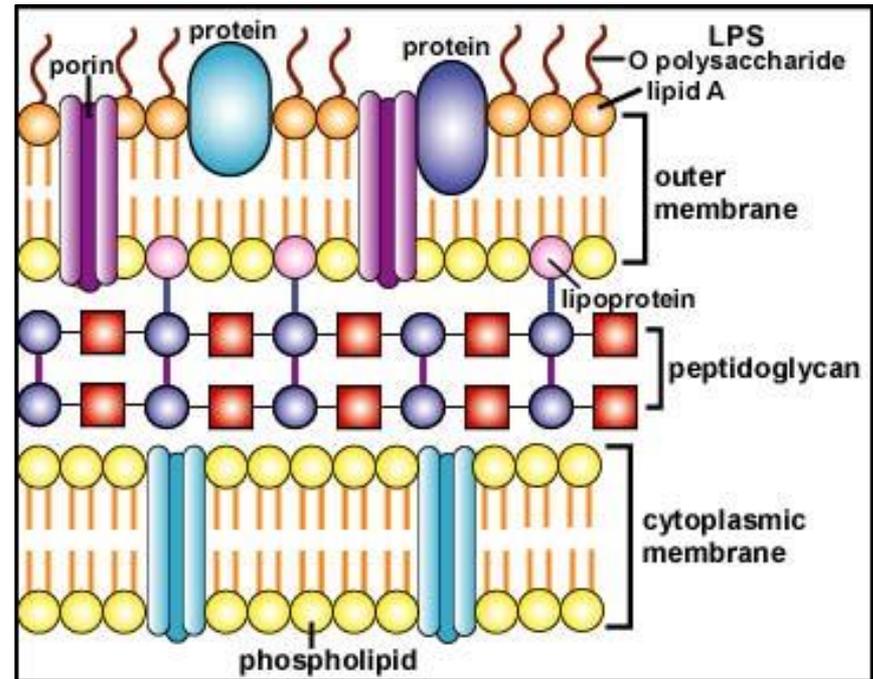
- Estrutura complexa
- Semi rígida
- Responsável pela forma da célula
- Circunda a membrana plasmática, protegendo-a e ao interior da célula
  
- **PREVENIR A RUPTURA DA CÉLULA QUANDO A PRESSÃO DA ÁGUA DENTRO DA BACTÉRIA É MAIOR QUE A DE FORA**

# PAREDE CELULAR - PEPTIDEOGLICANO

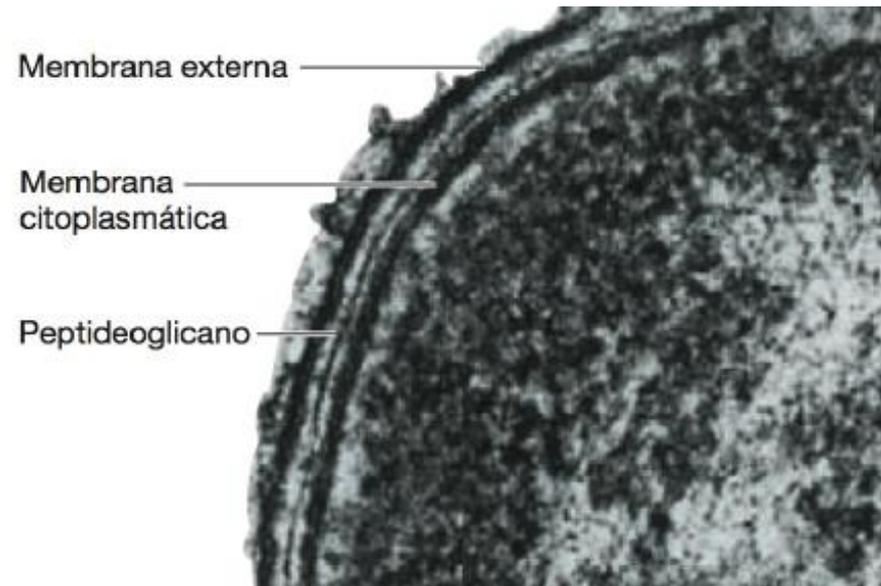
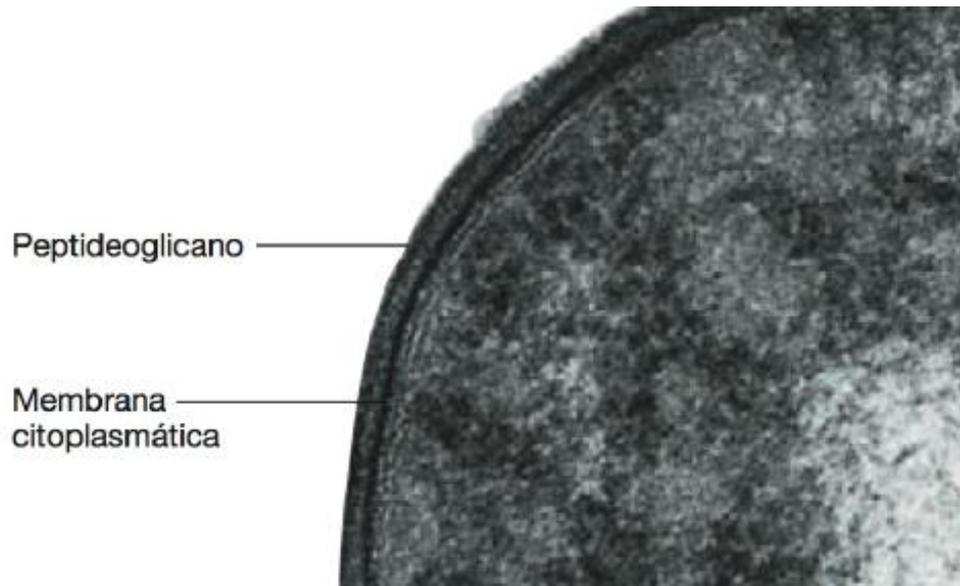
## Gram positivo



## Gram negativo



# Parede celular

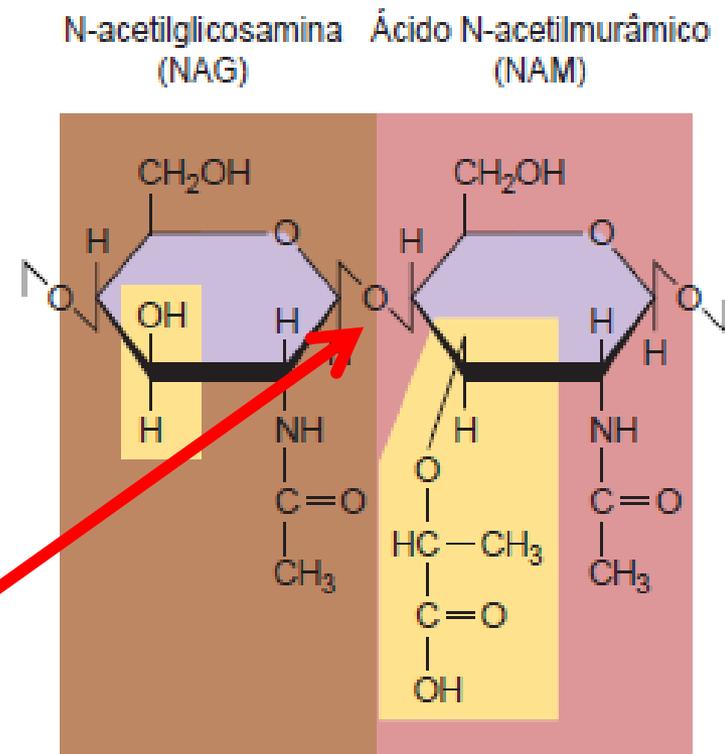


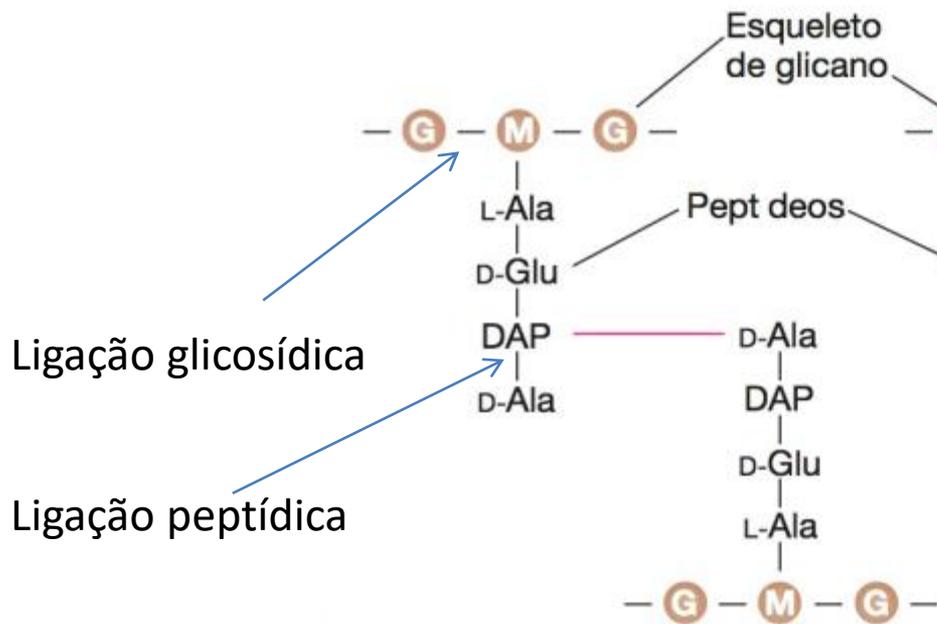
Membrana citoplasmática + Parede celular = **Envoltório bacteriano**

# Peptideoglicana

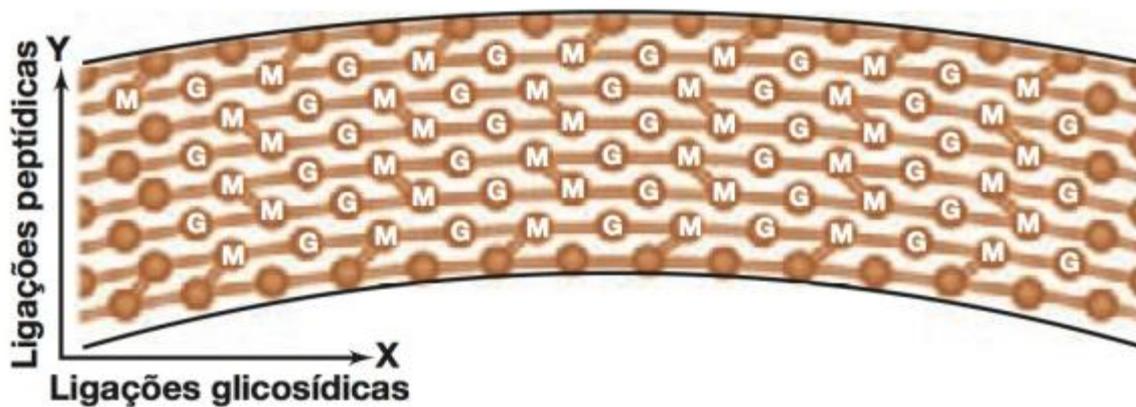
- Polissacarídeo composto por dois açúcares e aminoácidos:
  - N-acetilglicosamina (G ou NAG)
  - **Ácido N-acetilmurâmico (M ou NAM)**
    - L-Alanina
    - D-Alanina
    - Ácido D-glutâmico
    - Lisina ou Ácido diaminopimérico (DAP)

**Ligação  $\beta$  1,4  $\rightarrow$  sensível à lisozima**

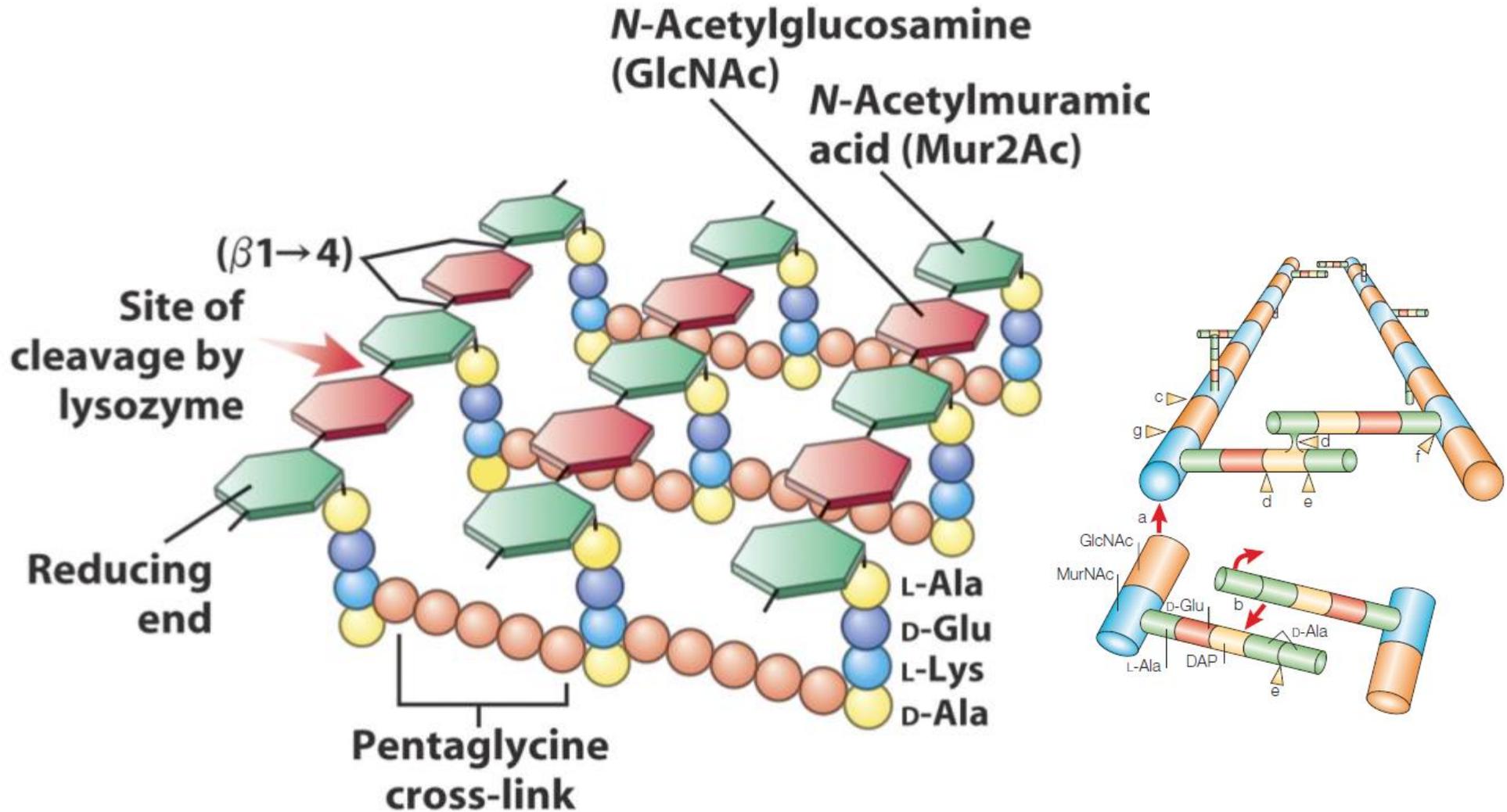




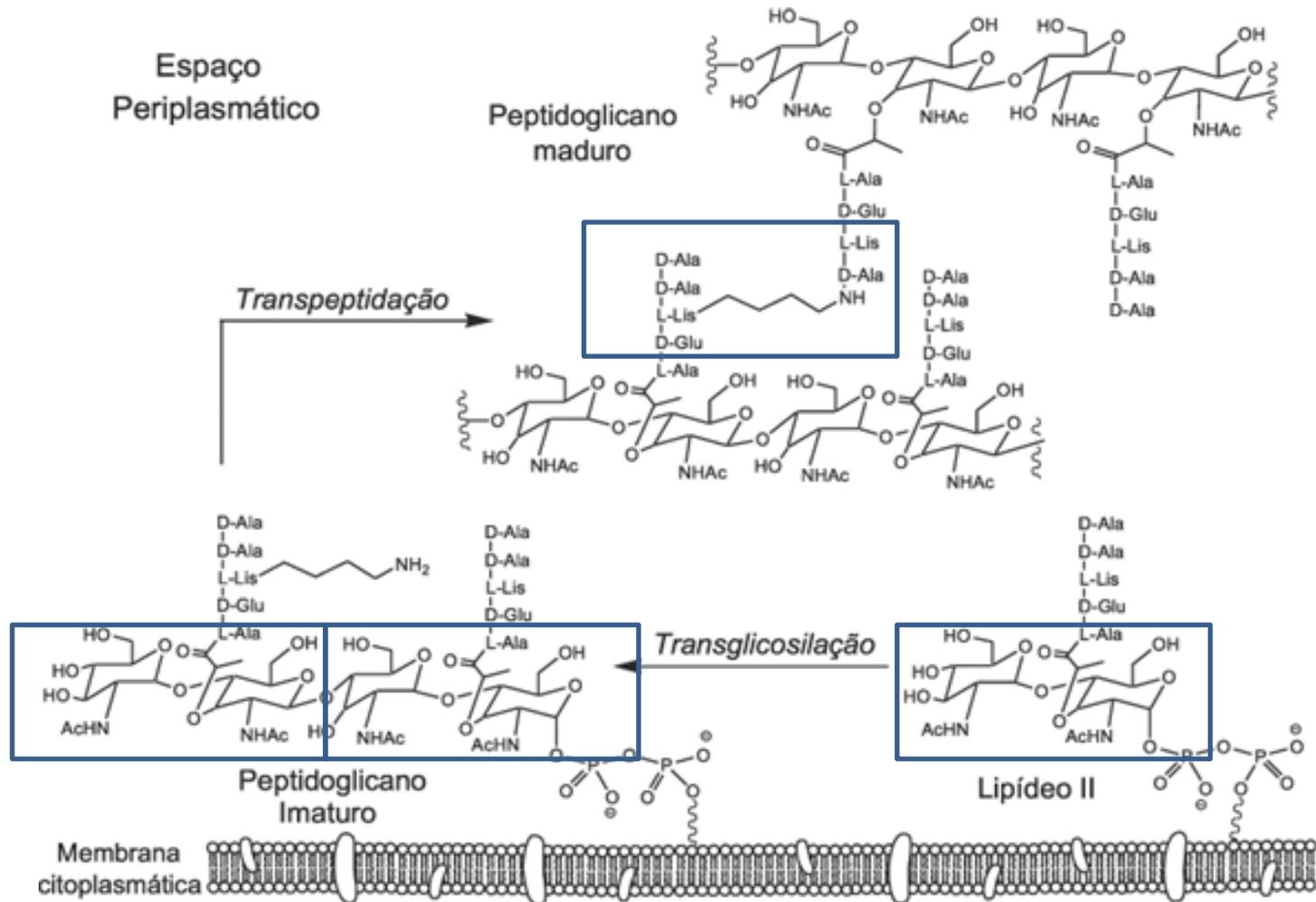
(a) *Escherichia coli*  
(Gram-negativo)



# Peptideoglicana – Gram-positivo



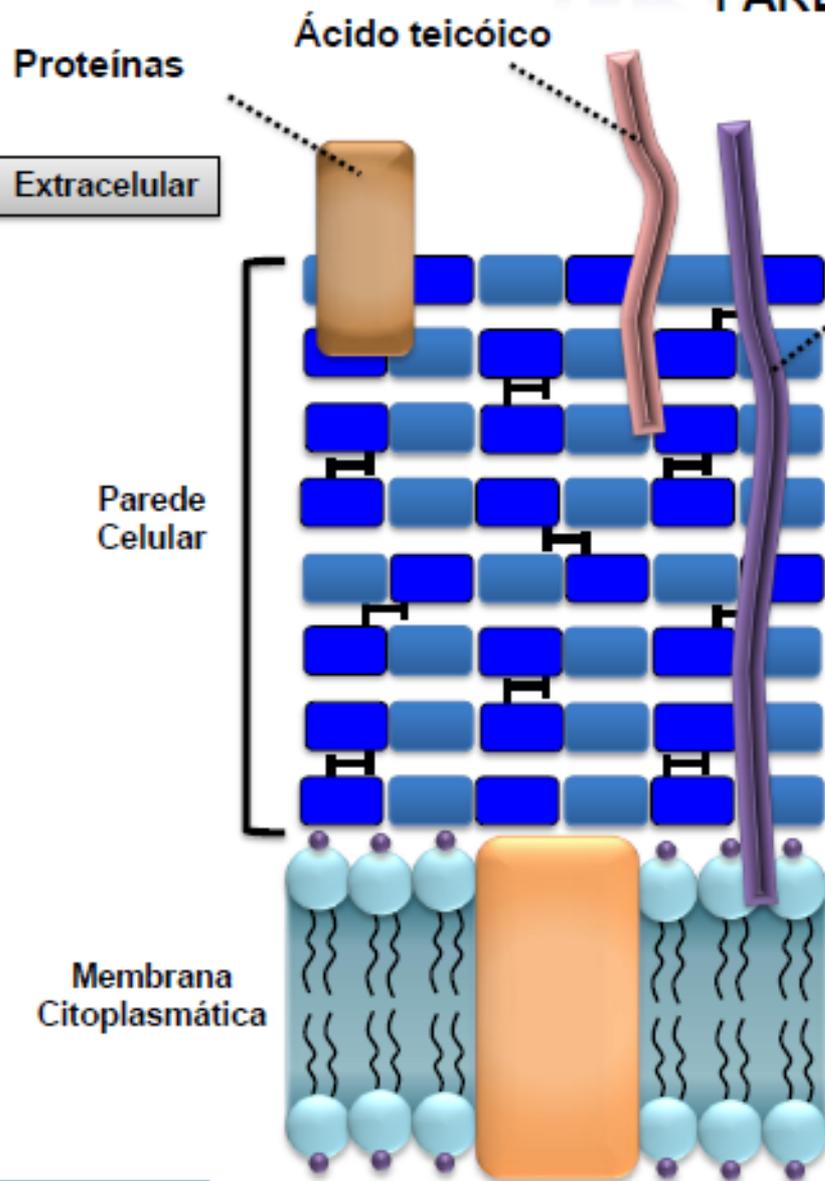
# Biossíntese de Peptideoglicana



Esquema 1. Síntese bioquímica do peptidoglicano

# GRAM POSITIVAS

## PAREDE CELULAR



**Exclusivos de Gram positivas;**

**Glicerol fosfato ou ribitol fosfato**

Membrana citoplasmática → Ác. Lipoteicóicos;

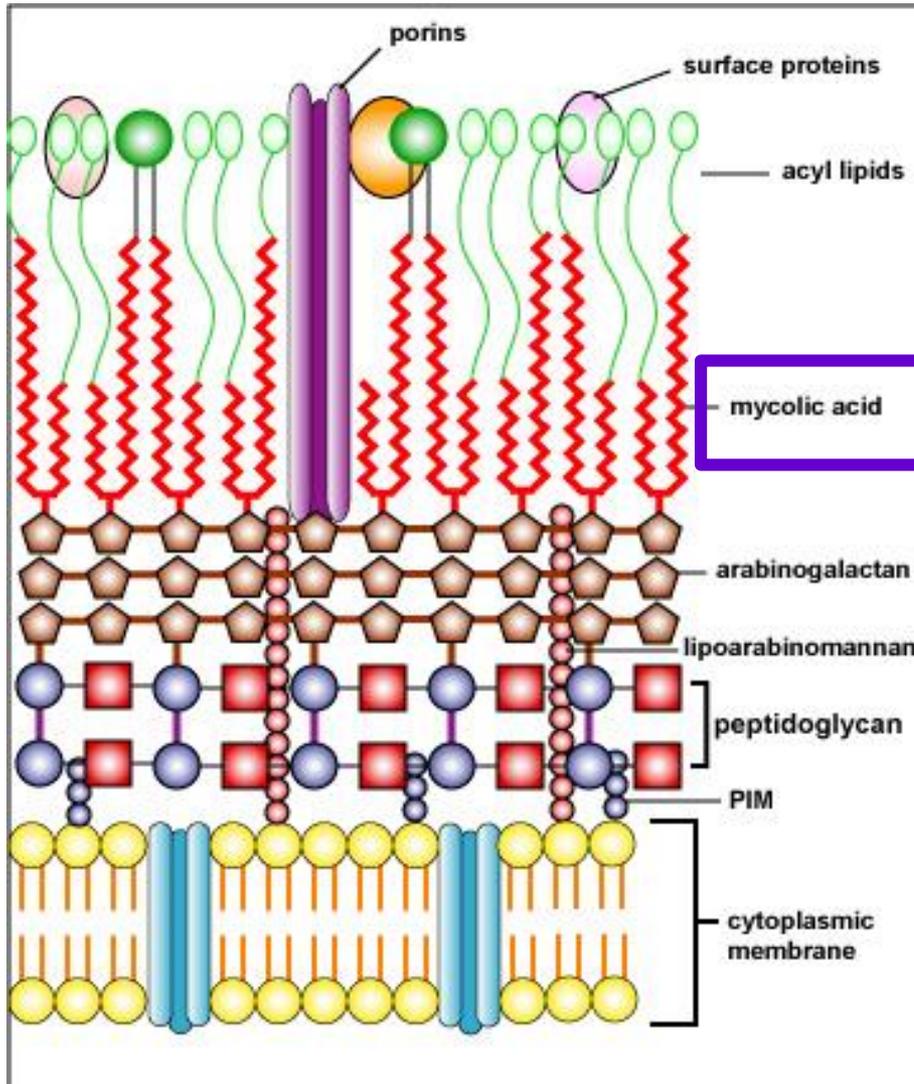
Parede celular → Ácidos teicóicos;

**Função:**

1. Facilitar e regular entrada e saída de cátions;
2. Regular atividade das autolisinas;
3. Receptor para bacteriófagos;
4. Ligação à receptores no hospedeiro;

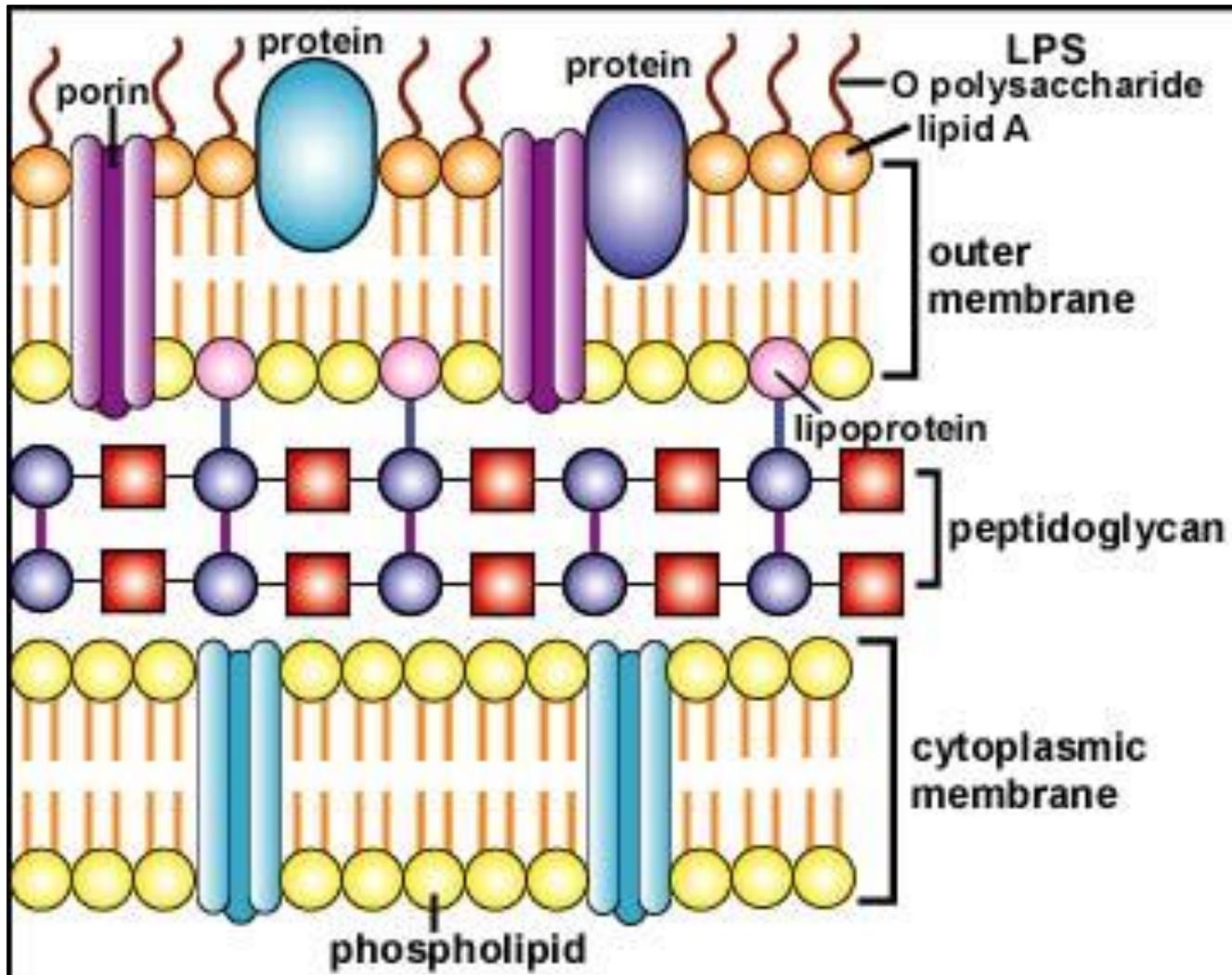
**Identificação sorológica;**

# Parede celular - Mycobacterium



- Estrutura complexa
- Exigentes nutricionalmente
- Crescimento lento
- Rica em lipídeos
- Superfície hidrofóbica
- Resistência a desinfetantes e corantes comuns

# Paredes celular – Gram negativas



# GRAM NEGATIVAS

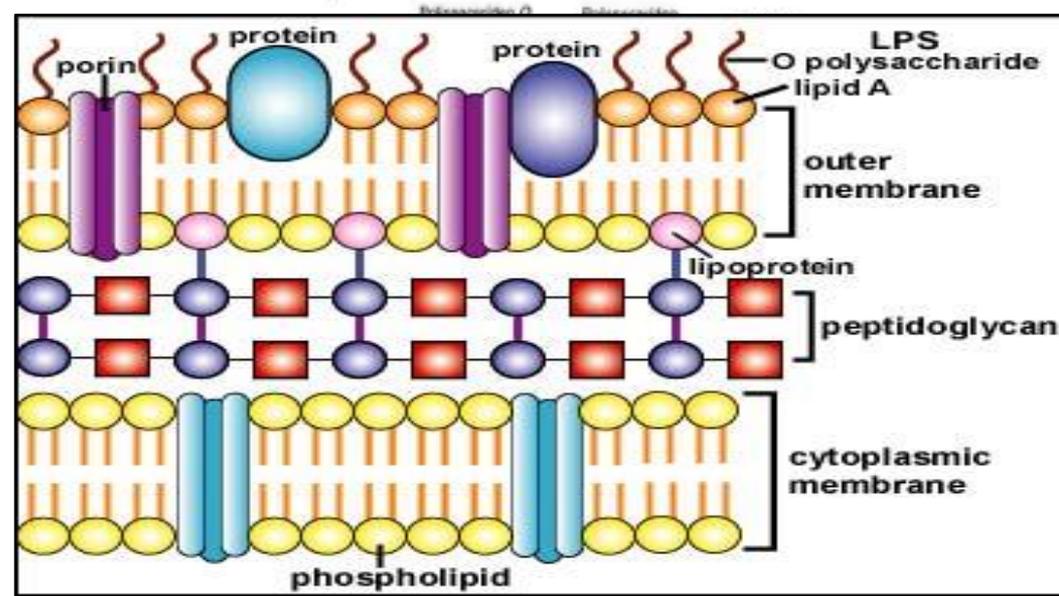
## PAREDE CELULAR

### PERIPLASMA OU ESPAÇO PERIPLASMÁTICO

- Membrana citoplasmática → Membrana externa;
- “Gel”;

### Composição:

- Peptideoglicano → delgado (5%);
- Enzimas:
  - Hidrolíticas (proteases, lipases, nucleases);
  - Inativadoras de drogas;
- Proteínas transportadoras;



# Membrana externa– Gram negativo

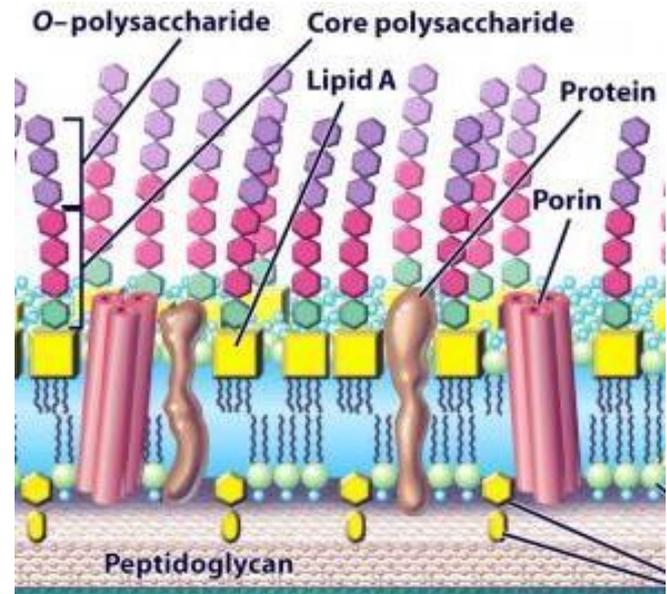
- Camada bilipídica assimétrica associada a proteínas:

- Lipídica:

- fosfolipídeos;
- lipopolissacarídeos (LPS);

- Protéica:

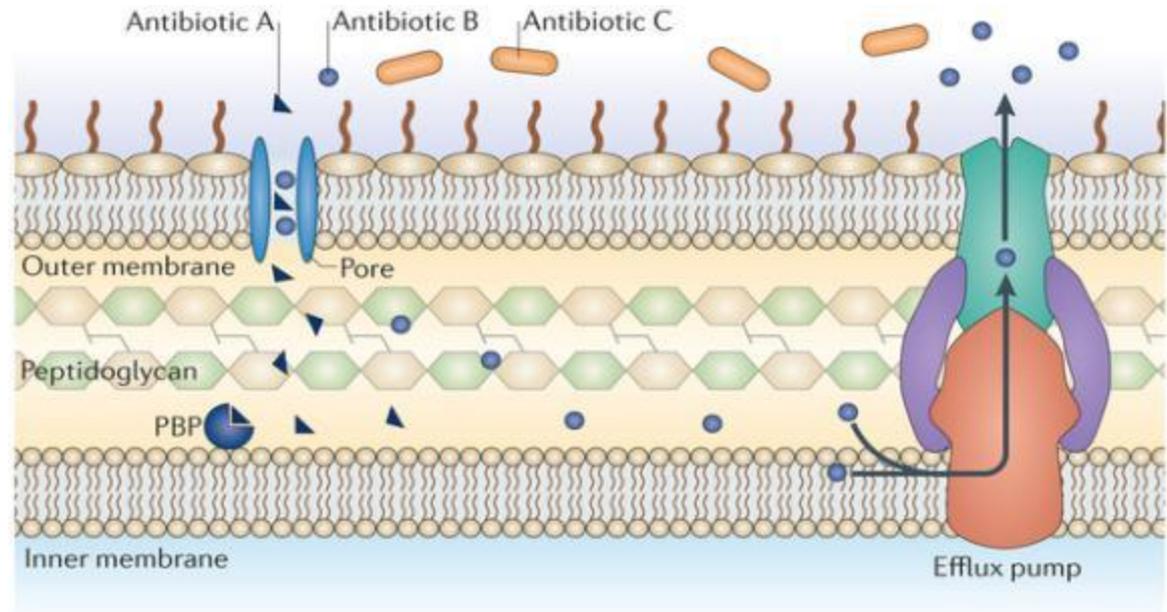
- Proteínas de membrana externa (OMP);
- Lipoproteínas.



# Membrana externa– Gram negativo

## Componentes protéicos

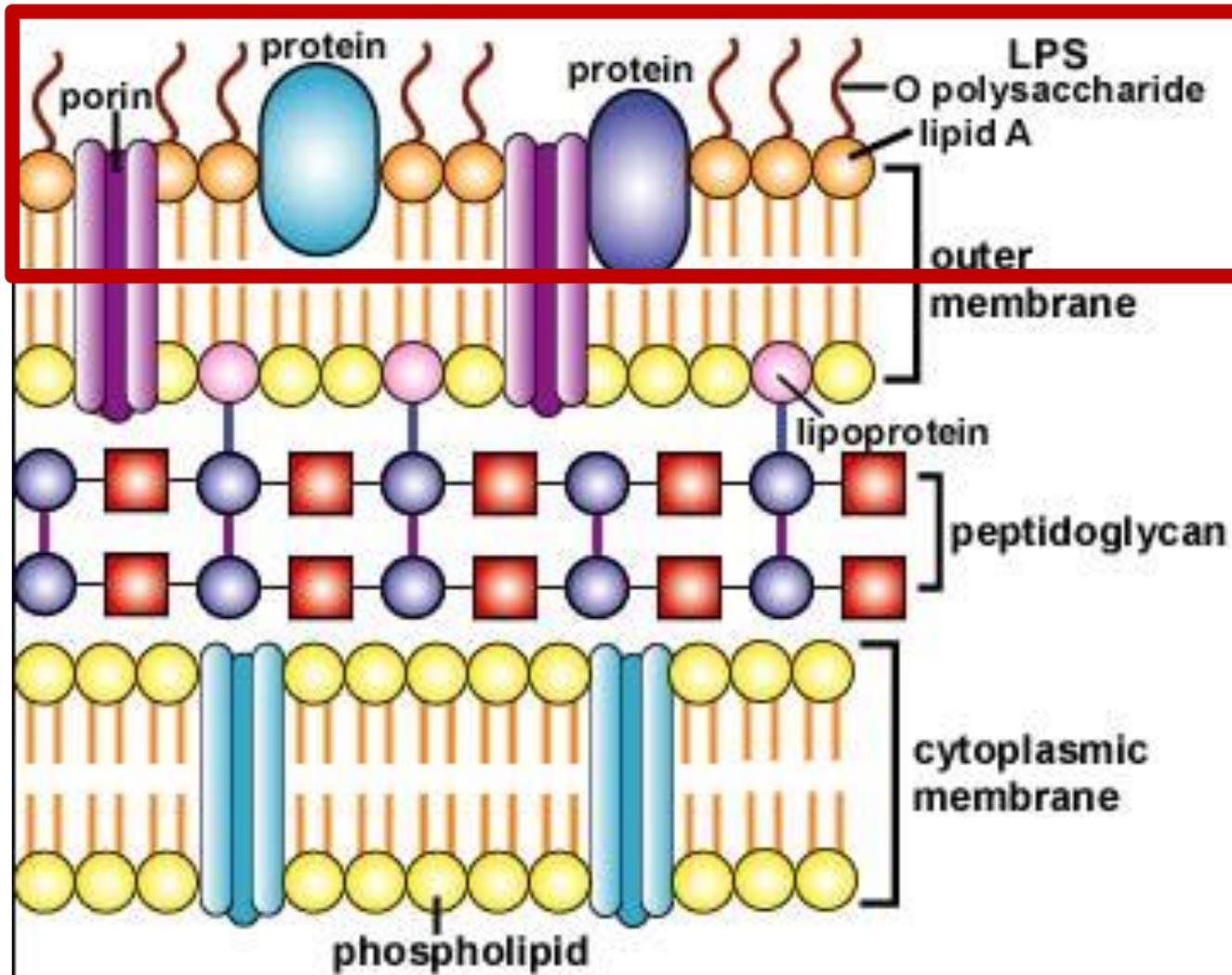
- Lipoproteínas;
- Porinas clássicas;
- Canais específicos;



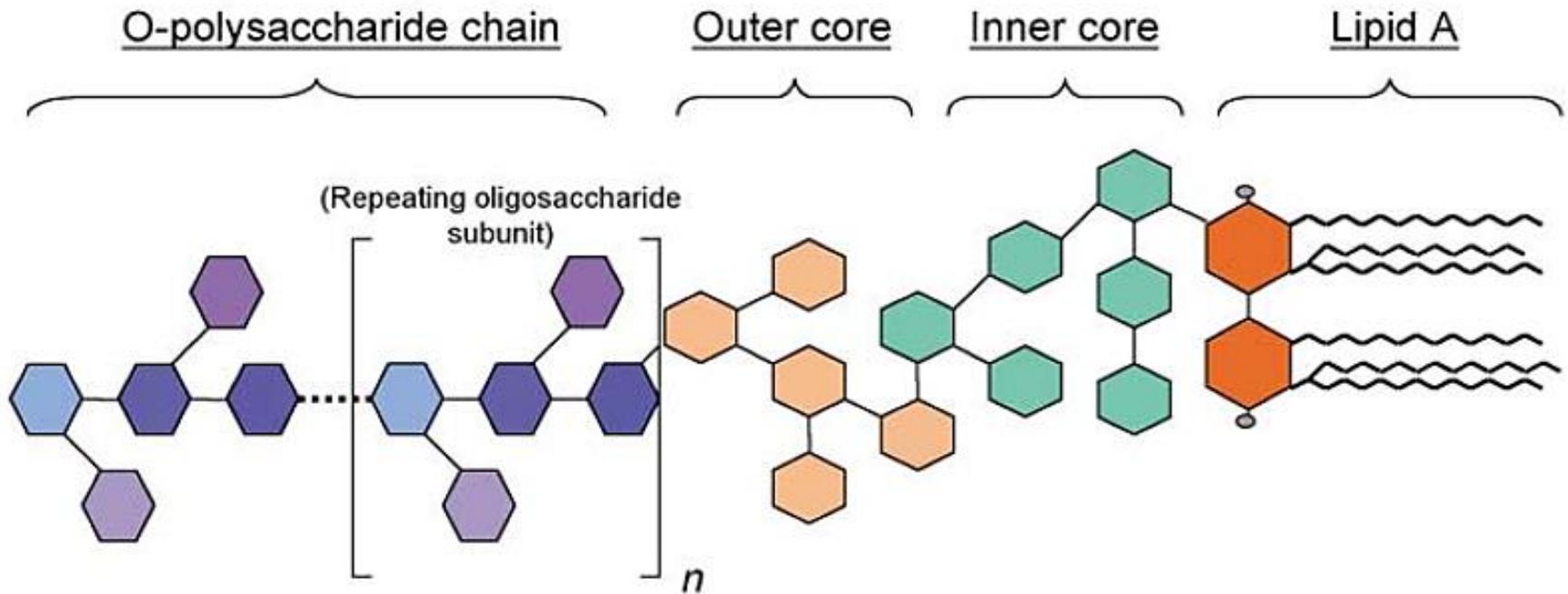
Nature Reviews | Microbiology

- Receptores de alta afinidade;
- Proteínas envolvidas diretamente na exportação/importação de proteínas e possivelmente drogas.

# 5- Lipopolissacarídeo( LPS ) na membrana externa



# Estrutura e Composição do LPS



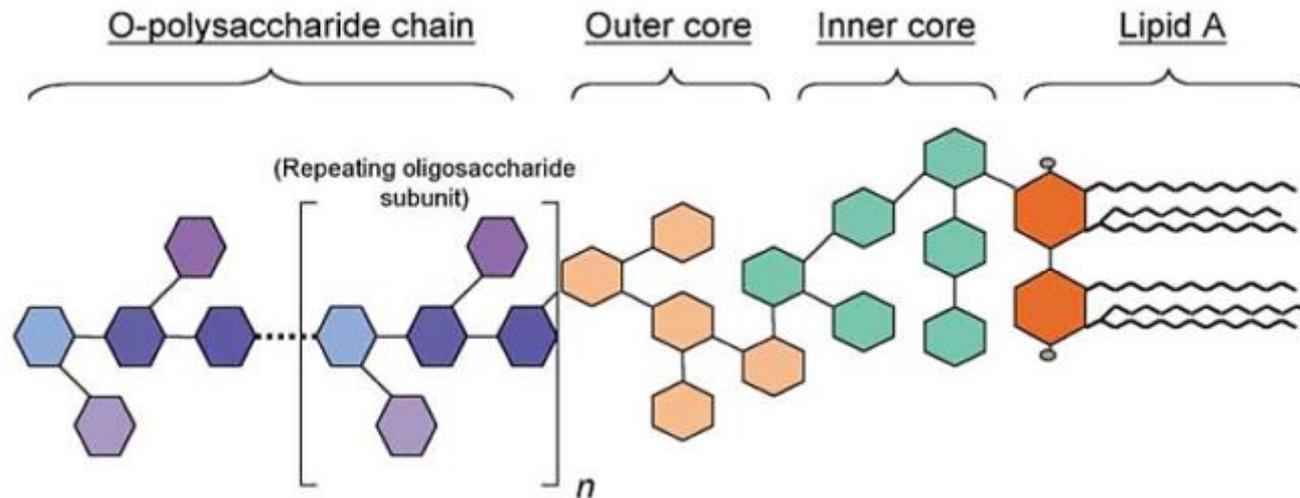
Highly variable, responsible for serological specificity of LPS variants. Primary target for antibody responses against LPS. Long repeating form not seen in LOS expressing bacteria or rough mutant strains.

More likely to contain common sugars such as hexoses/hexosamines etc.

Highly conserved, contains unusual sugars Kdo and heptose.

Di-glucosamine backbone very highly conserved. Acyl chain length/substitution pattern is primary determinant of endotoxicity.

# Antígeno O



\* diferencia as bactérias em sorogrupos (AgO)

- Ag O + Ag H = sorotipo **Ag O: O1- O173**

Ag H: H1- H60 (ex. *E.coli* O55:H6)

\* Análise antigênica: em Laboratório Clínico é realizada apenas

para : *E. coli* (fezes)

*Salmonella sp*

*Shigella sp*

*Yersinia sp*

*Estudos epidemiológicos*

## 6. Outras estruturas bacterianas

# Cápsula

Externa; }  
Ligada; } Parede celular

Polissacarídica;

Compacta;

Espessura variável;

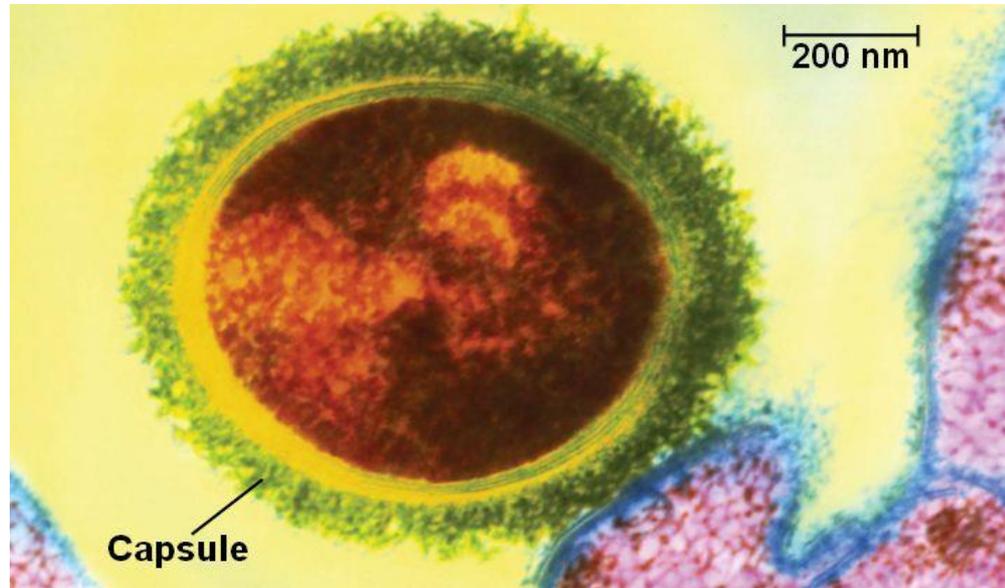
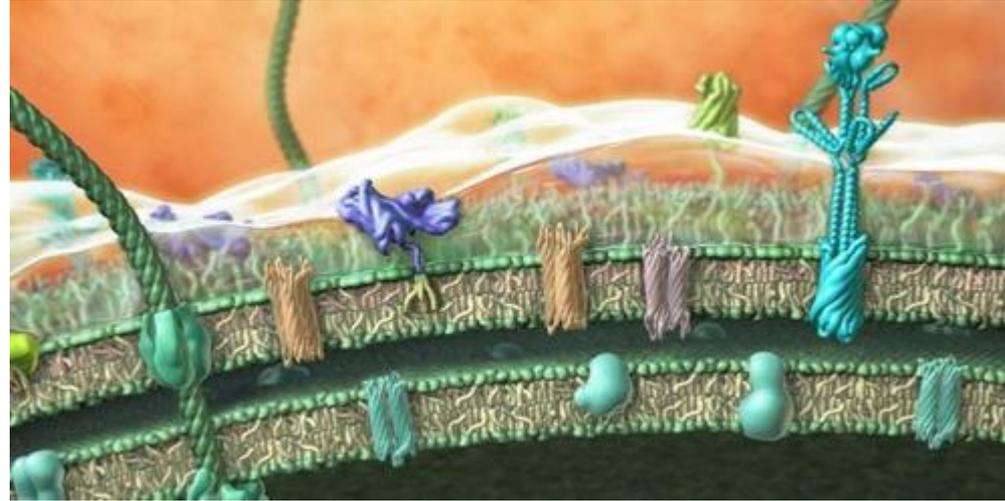
Rigidez;

**Função:**

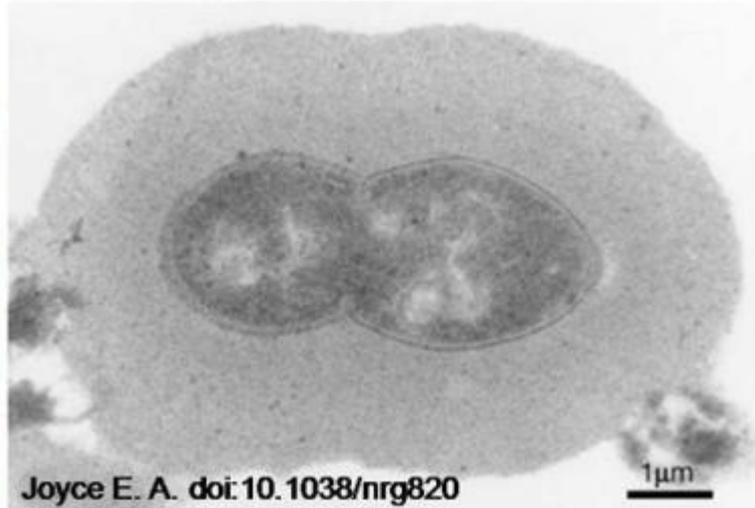
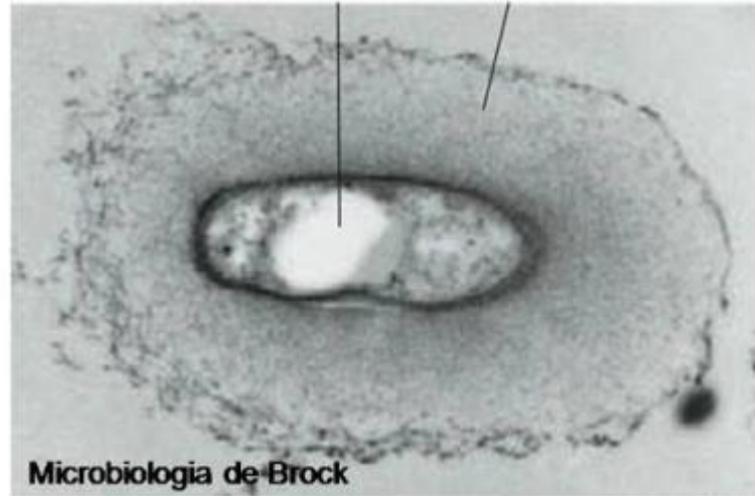
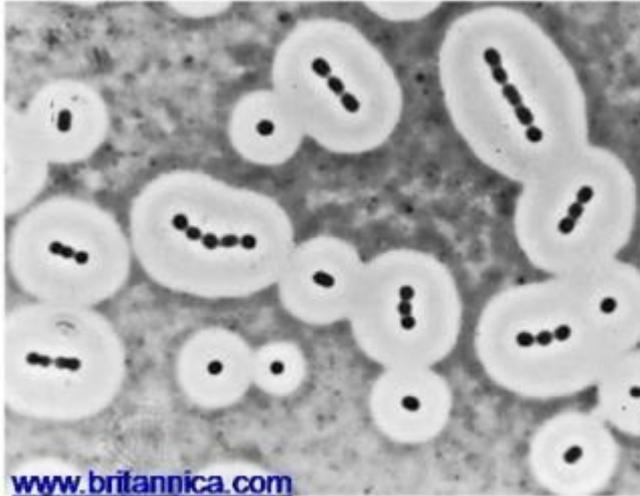
Resistência à dessecação;

Anti-fagocítica;

Adesão;

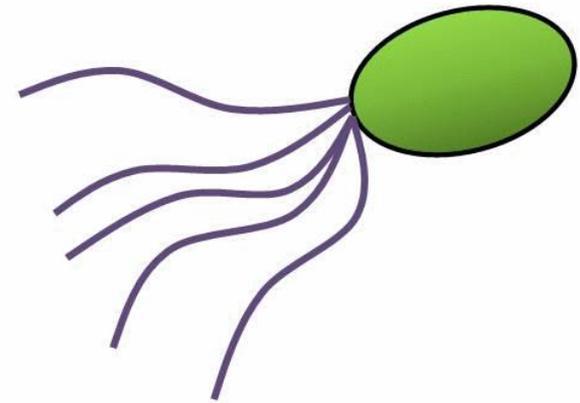


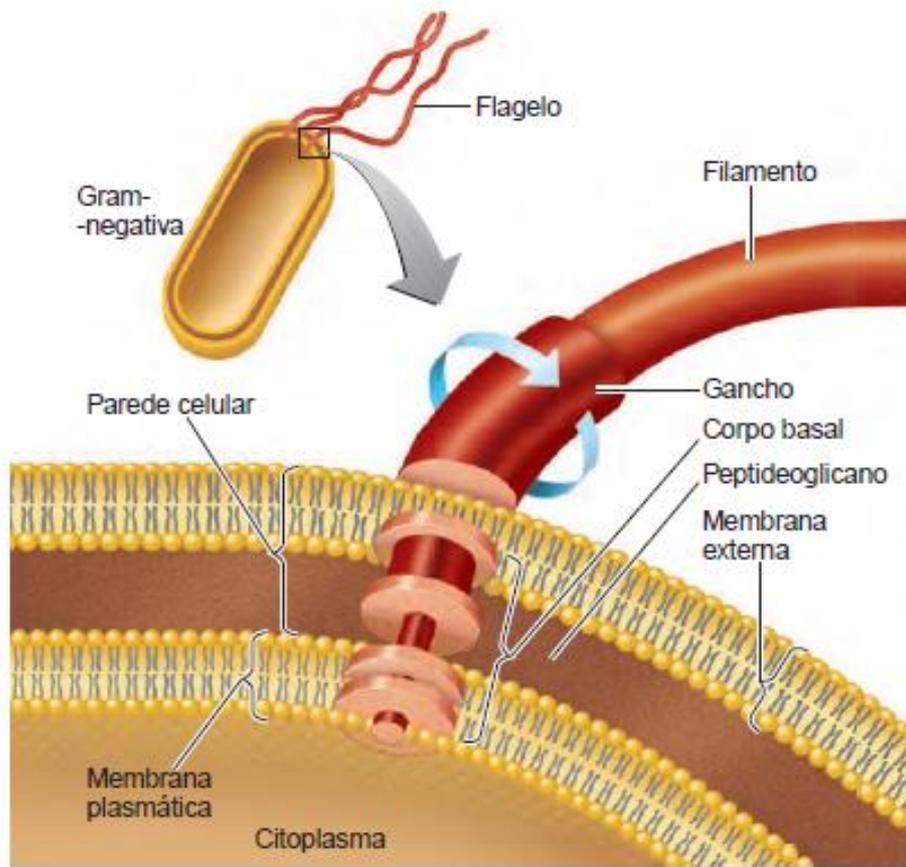
# Cápsula



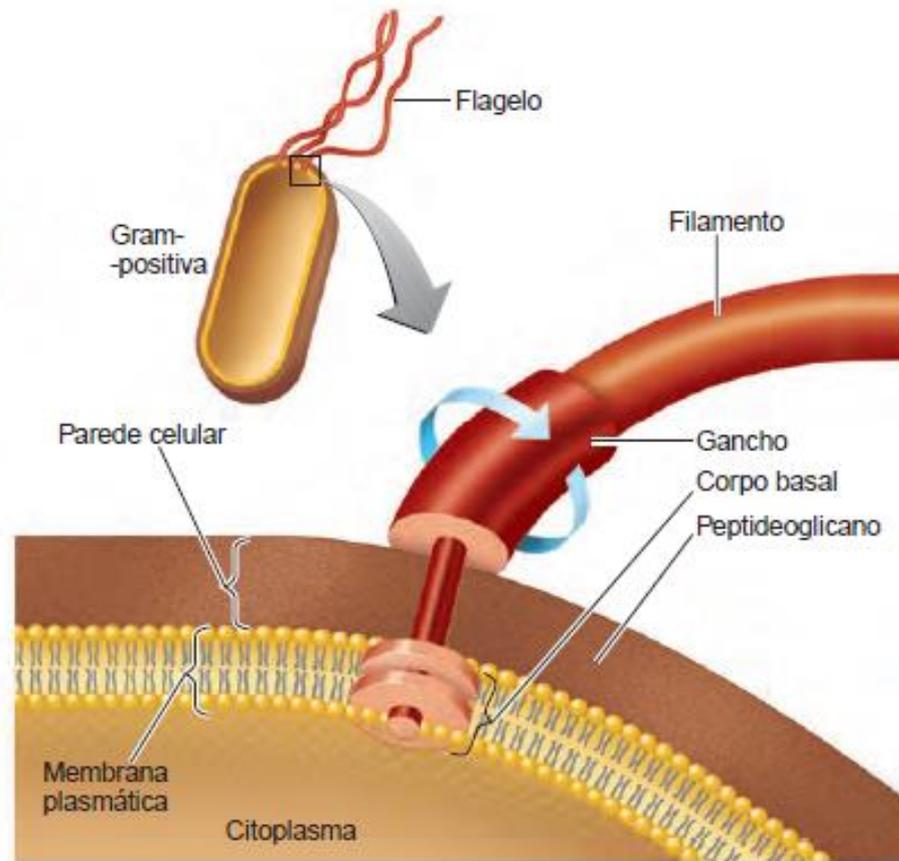
# FLAGELO

- Motilidade
- Tipagem bacteriana
- Adesão bacteriana
- Biofilme
- Maior do que a célula
- Espiroquetas – filamento axial
- Ligados na membrana plasmática e na parede celular





(a) As partes e a fixação de um flagelo de uma bactéria gram-negativa.



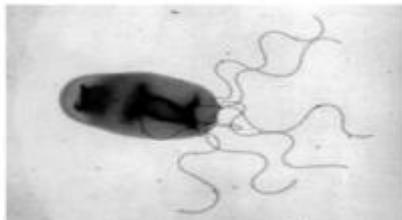
(b) As partes e a fixação de um flagelo de uma bactéria gram-positiva.

**Flagelo polar - monotríqueo**



J Bacteriol. 1966 Jan; 91(1): 414-421.

**Flagelo polar - lofotríqueo**



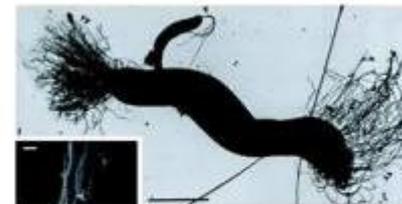
Clin Microbiol Rev. 2012 Jan; 25(1): 42-78.

**Flagelo anfitriquo**



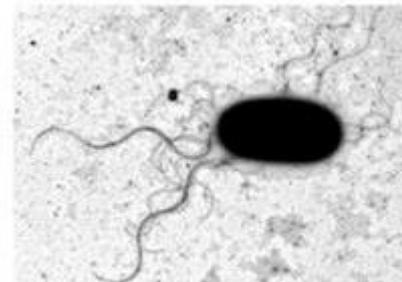
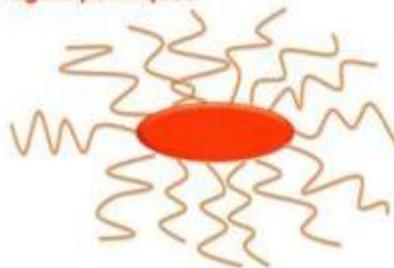
mBio. 2014 May-Jun; 5(3): e01349-14.

**Flagelo anfitriquo**



Proc Natl Acad Sci U S A. 1999 Sep 28; 96(20): 11584-11588.

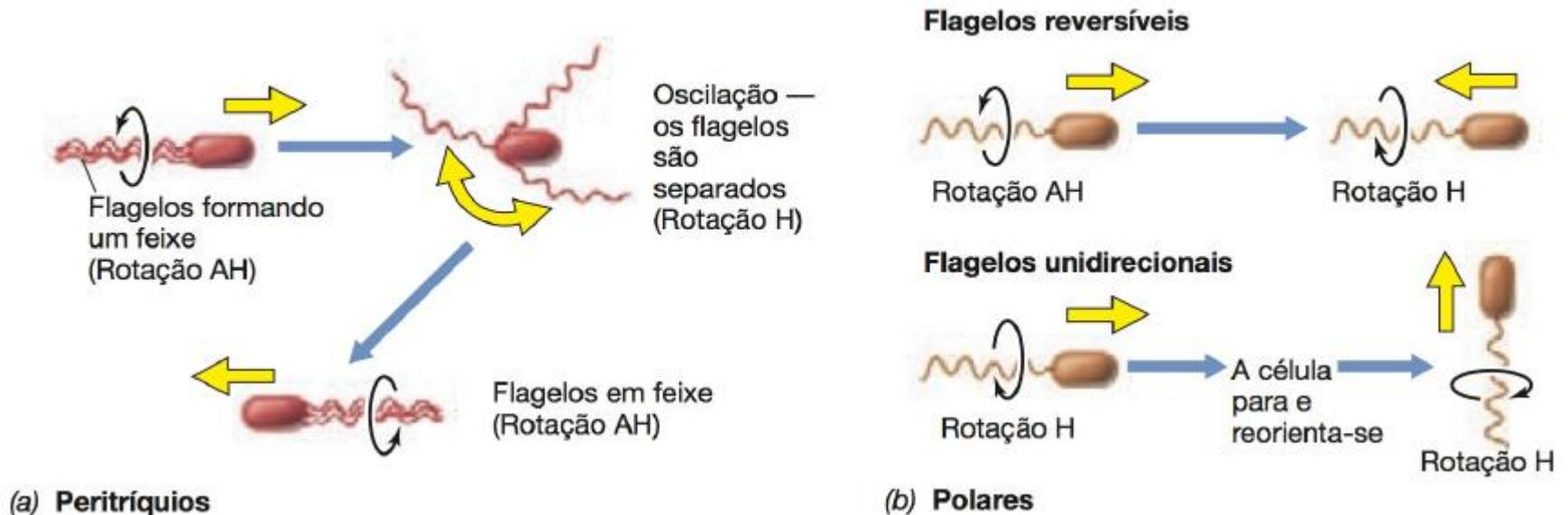
**Flagelo peritriquo**



Appl Environ Microbiol. 2007 May; 73(9): 2963-2975.

# FLAGELO

- Locomoção ao acaso
- Em direção a/ em oposição a
- Quimiotaxia



# Flagelo

---

## *Swimming* x *Swarming*

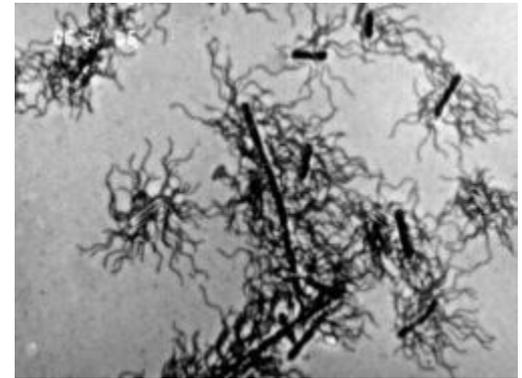
***Swimming*** – movimentação bacteriana

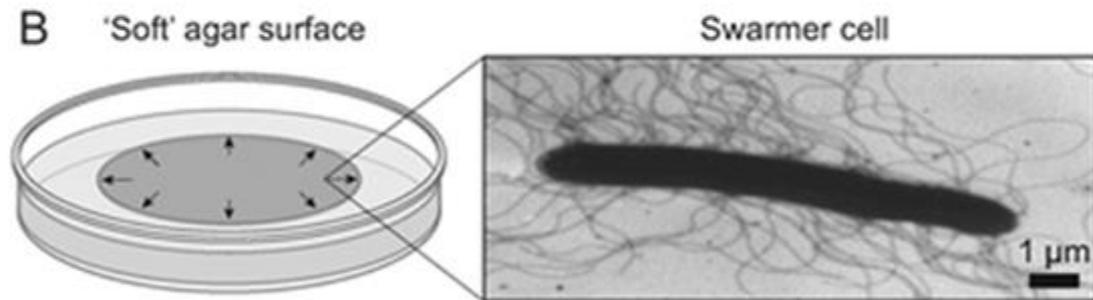
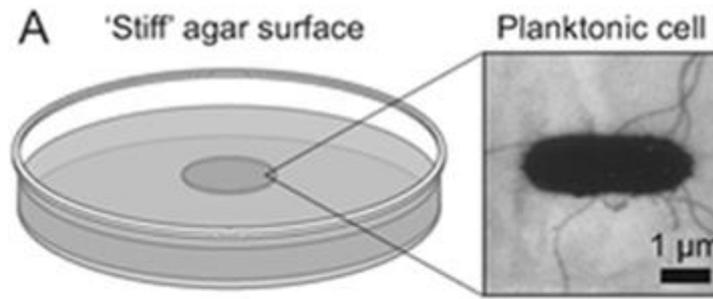
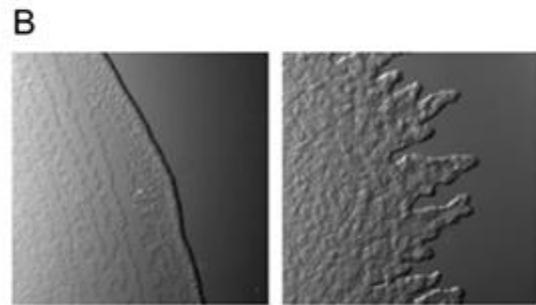
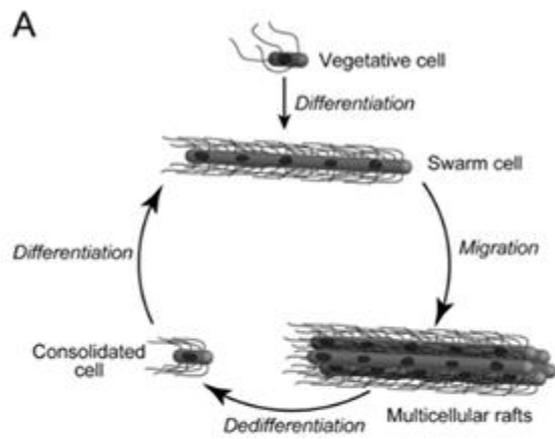
- unidade (movimento da célula bacteriana)
- meio aquoso



***Swarming*** – fenômeno social

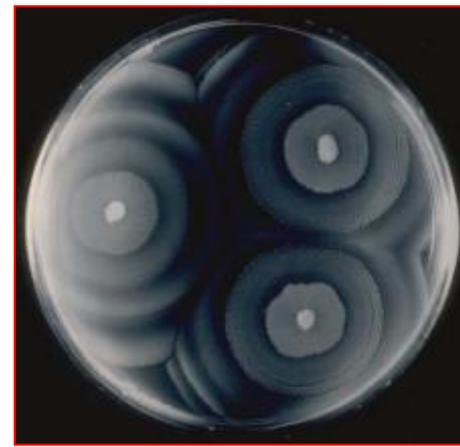
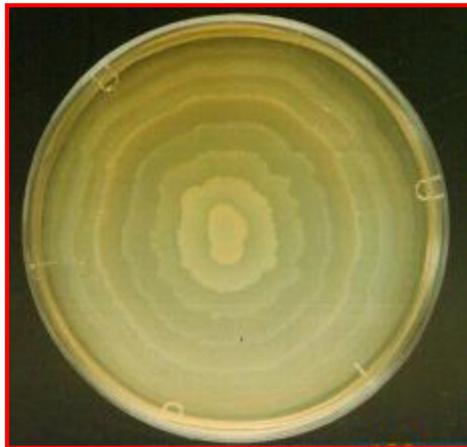
- multicelularidade
- movimentação de um conjunto bacteriano
- superfícies





Hannah H. Tuson et al. *J. Bacteriol.* 2013;195:368-377

<http://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2009/sm/b812146j>



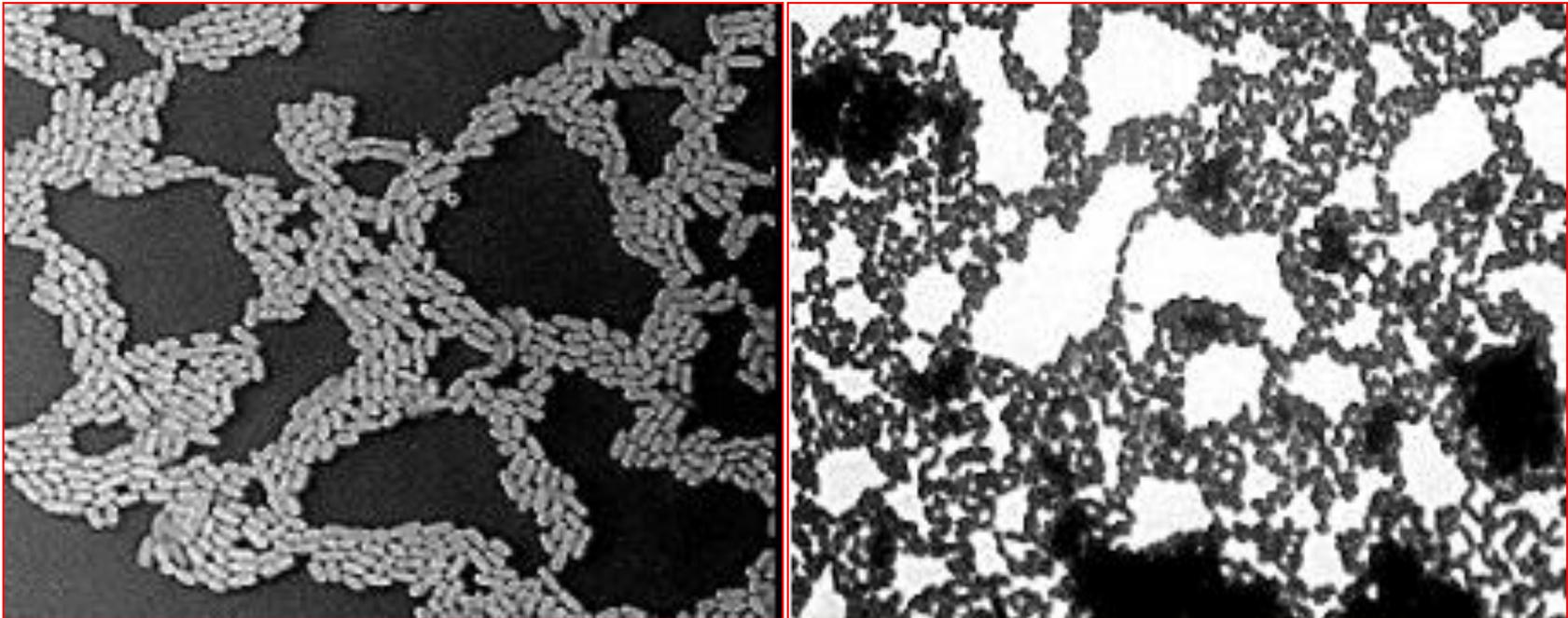
# Flagelo

---

## Biofilme

- adesão celular
- *swimming* e *swarming*
- colonização
- regulada por Quorum sensing

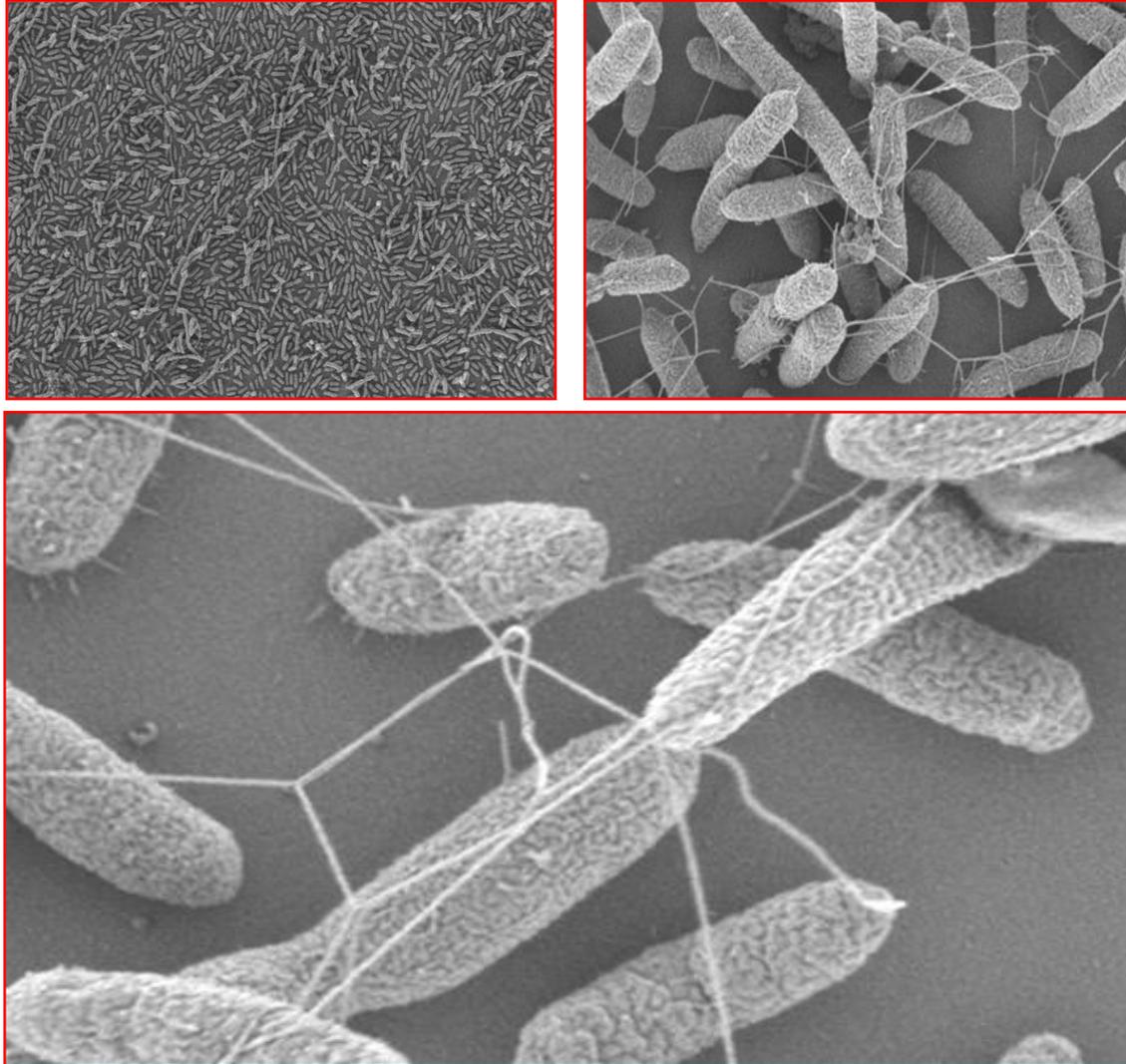
Biofilmes formados por *S. maltophilia*



# Flagelo

---

## Análise ultraestrutural de biofilme de *S. maltophilia*



(Garcia et al., 2001)

# Fimbria

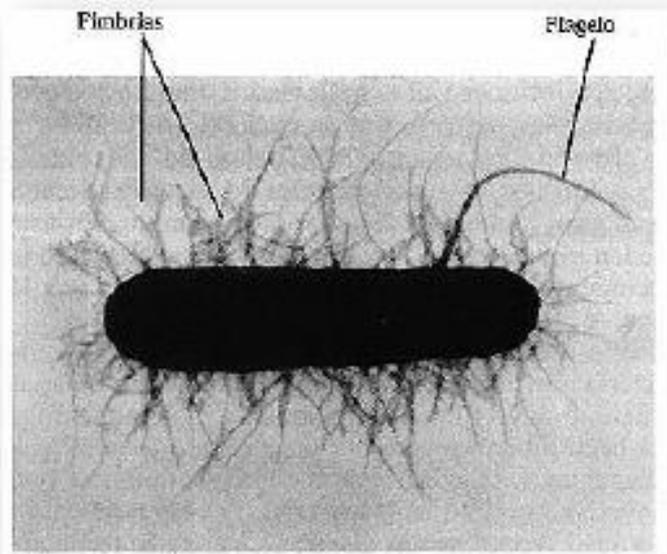
Filamentosos ;

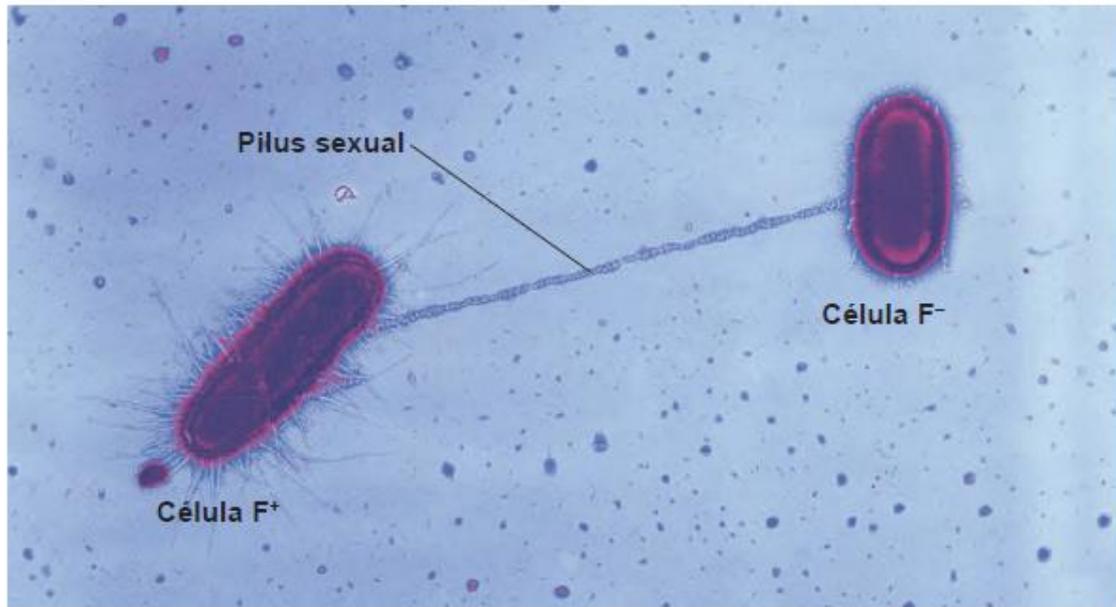
Proteína;

menores → flagelo;

maior número;

**Função → adesão;**





(a) Pilus sexual

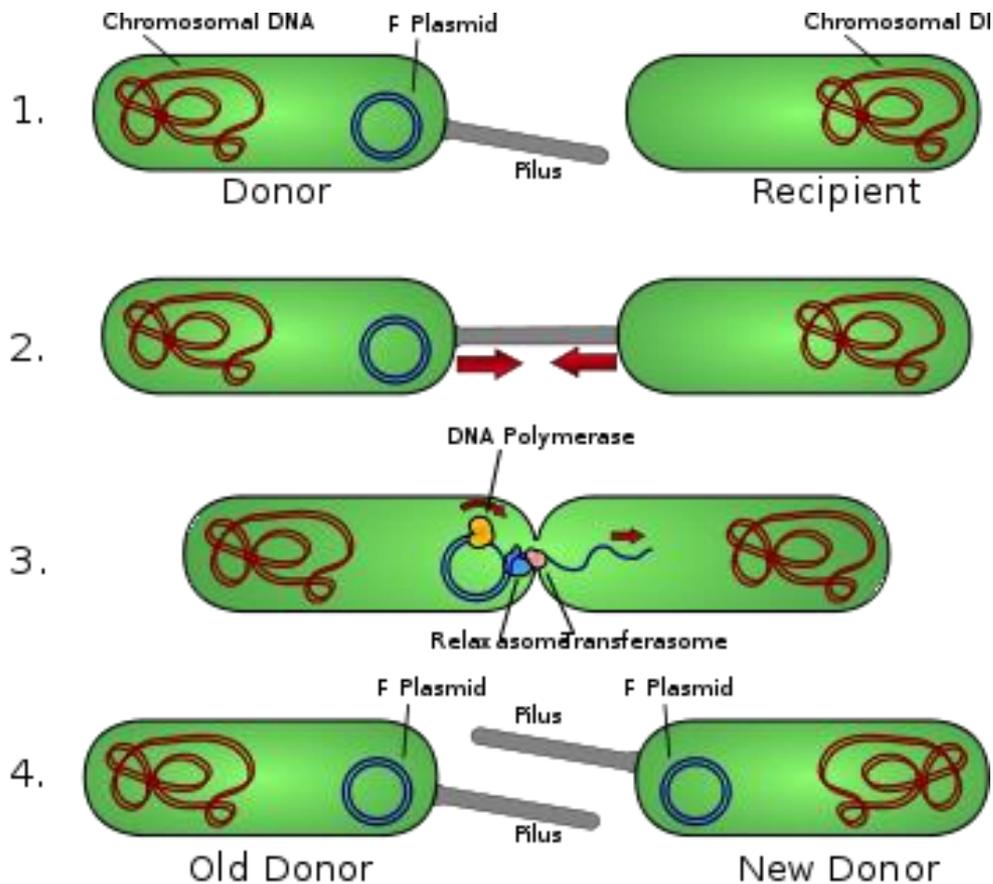
MET | 1  $\mu$ m



(b) Ponte de conjugação

MET | 0,3  $\mu$ m

# PLASMÍDEO - conjugação



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

# Esporos ou endósporos

Estrutura de resistência;

Radiação;

Dessecação;

Químicos;

\* Desidratação;

Gram positiva:

Gênero: *Bacillus* e *Clostridium*;

Bactérias de solo;

Carência nutricional;

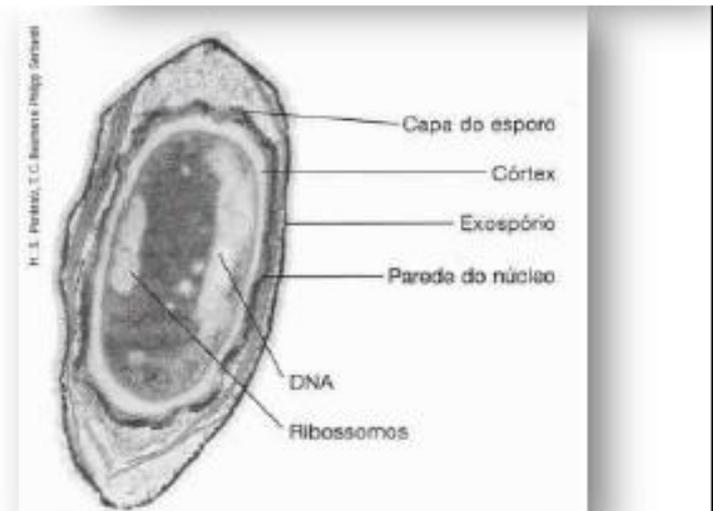
Coloração Schaeffer-Fulton;

Esgotamento de nutrientes essenciais

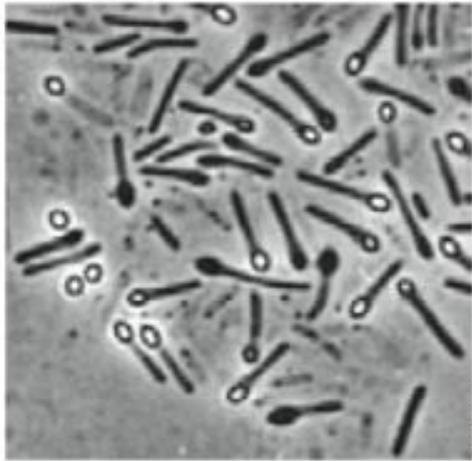
Células especializadas de “repouso”

Esporulação ou esporogênese

**IMPORTÂNCIA → esterilização!!**

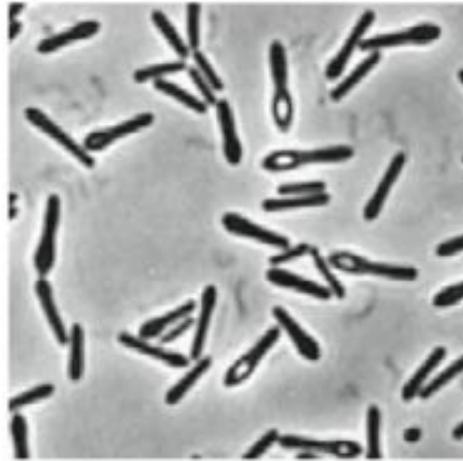


# ENDÓSPORO - localização



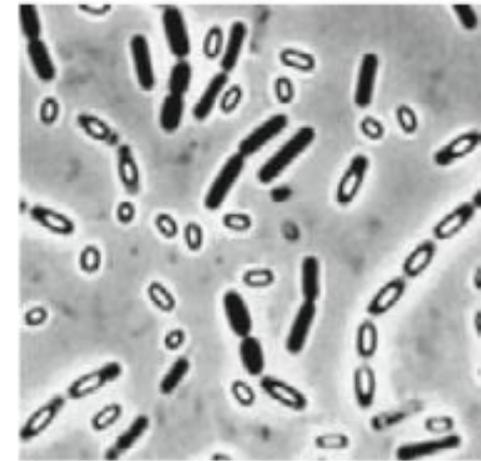
H. Hippe

(a) Esporos terminais



H. Hippe

(b) Esporos subterminais



H. Hippe

(c) Esporos centrais

# 7- Morfologia bacteriana



# MORFOLOGIA MACROSCÓPICA



**Isolado do solo**



**Bacterial colonies**

***Staphylococcus aureus***



**Lactose positiva**

**Lactose negativa**

# MORFOLOGIA MACROSCÓPICA



# IMPORTÂNCIA DAS TÉCNICAS DE ISOLAMENTO

- Permite observar a morfologia das colônias bacterianas;
- Facilita a identificação de contaminações em culturas;
- Permite a coleta e trabalho com população única (mesmo perfil genético).

# IMPORTÂNCIA DA MORFOLOGIA BACTERIANA

- Permite classificar as bactérias;
- Sugere gêneros bacterianos;
- Prediz o plano de divisão celular.

# MORFOLOGIA DA CÉLULA BACTERIANA

## FORMA

- Tamanho

- Variam de acordo com a espécie

- Observadas com aumento 1.000 vezes

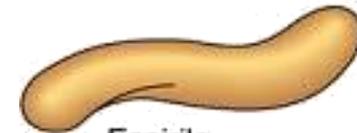
- 0,5 a 1  $\mu\text{m}$



Coco



Bacilo



Espirilo

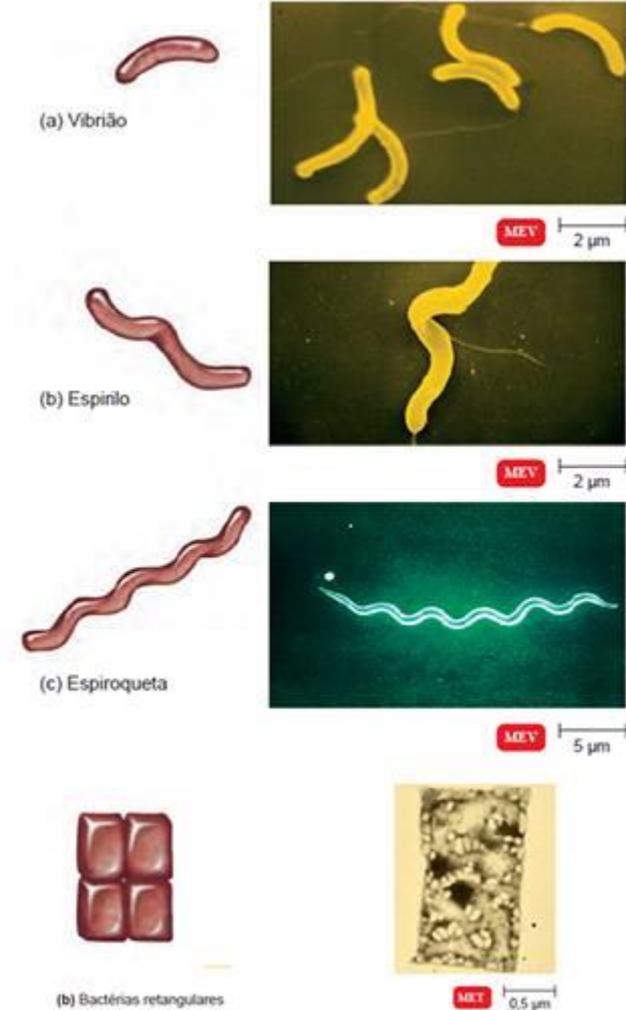
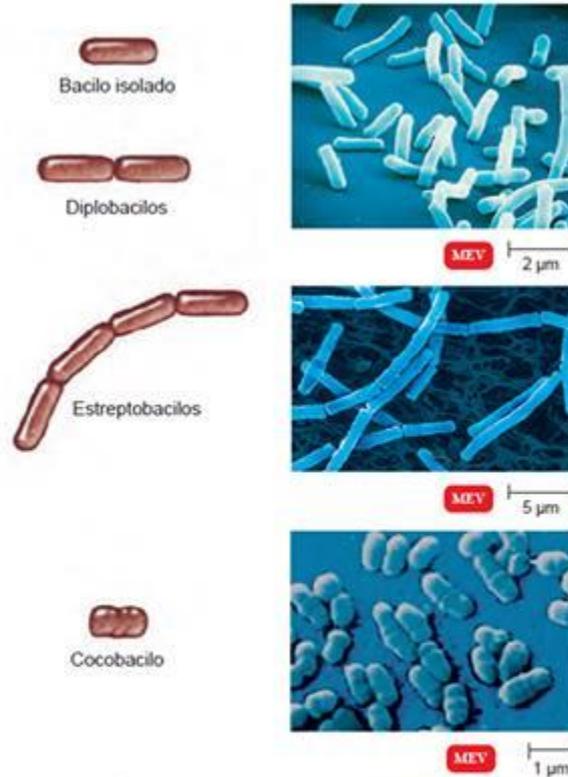
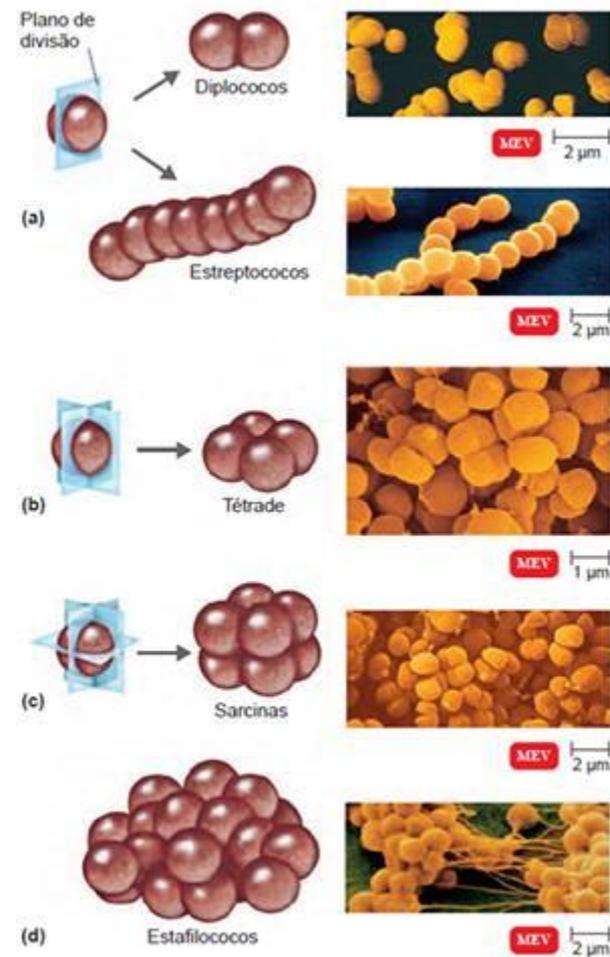
# Classificação dos Microrganismos

## Forma / Tamanho

- Esférico - coco ( $d=0,5 - 4\mu\text{m}$ )
- Cilíndrico – bacilo
  - $L = 0,5 - 20\mu\text{m}$
  - $d = 0,5 - 4\mu\text{m}$
- Espiralada
  - Vibrião  $L > 10\mu\text{m}$
  - Espirilo  $d \cong 0,5\mu\text{m}$

# MORFOLOGIA DA CÉLULA BACTERIANA

## ARRANJO

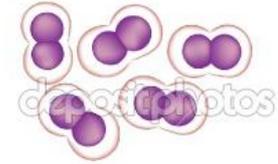




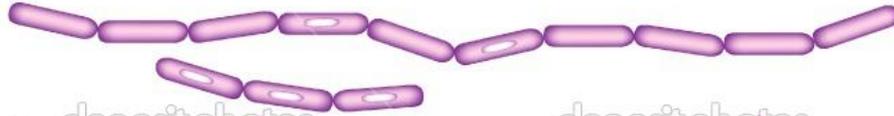
*Staphylococcus aureus*



*Streptococcus pyogenes*



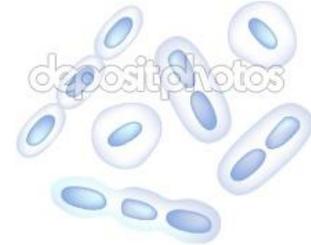
*Streptococcus pneumoniae*



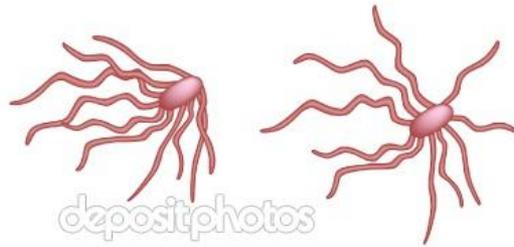
*Bacillus cereus*



*Vibrio cholerae*



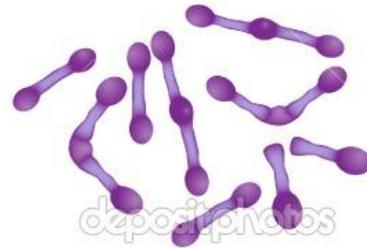
*Klebsiella pneumoniae*



*E. coli ; Salmonella*



*Bordetella pertussis*



*Corynebacterium diphtheriae*



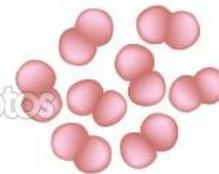
*Helicobacter pylori*



*Clostridium botulinum*



*Clostridium tetani*



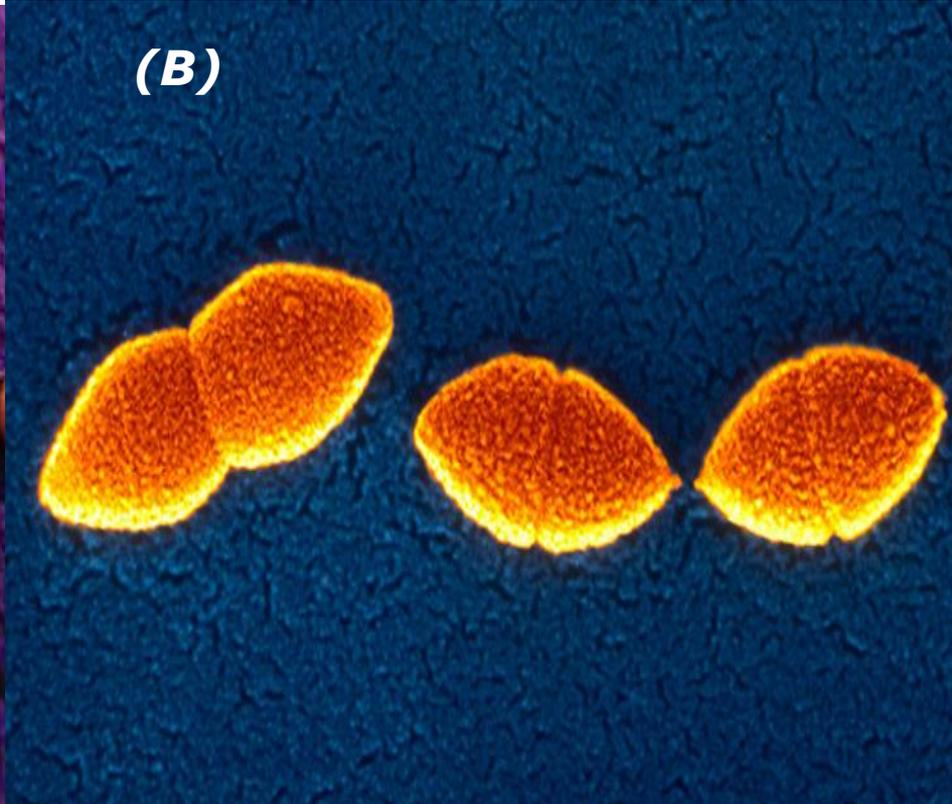
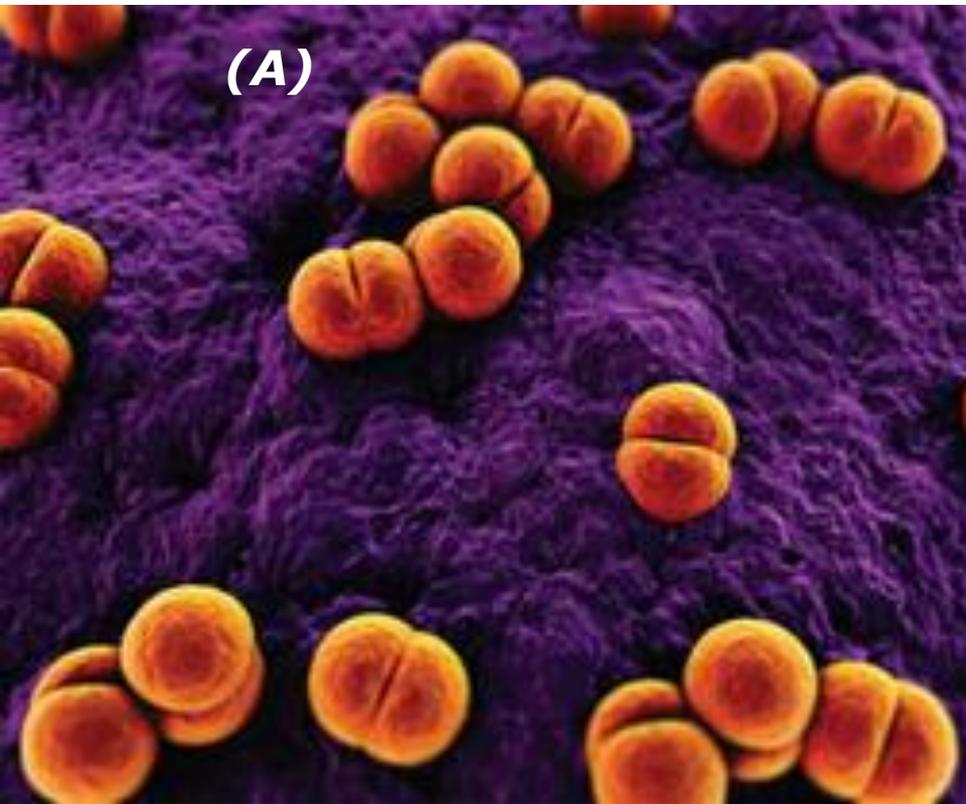
*Neisseria gonorrhoeae*



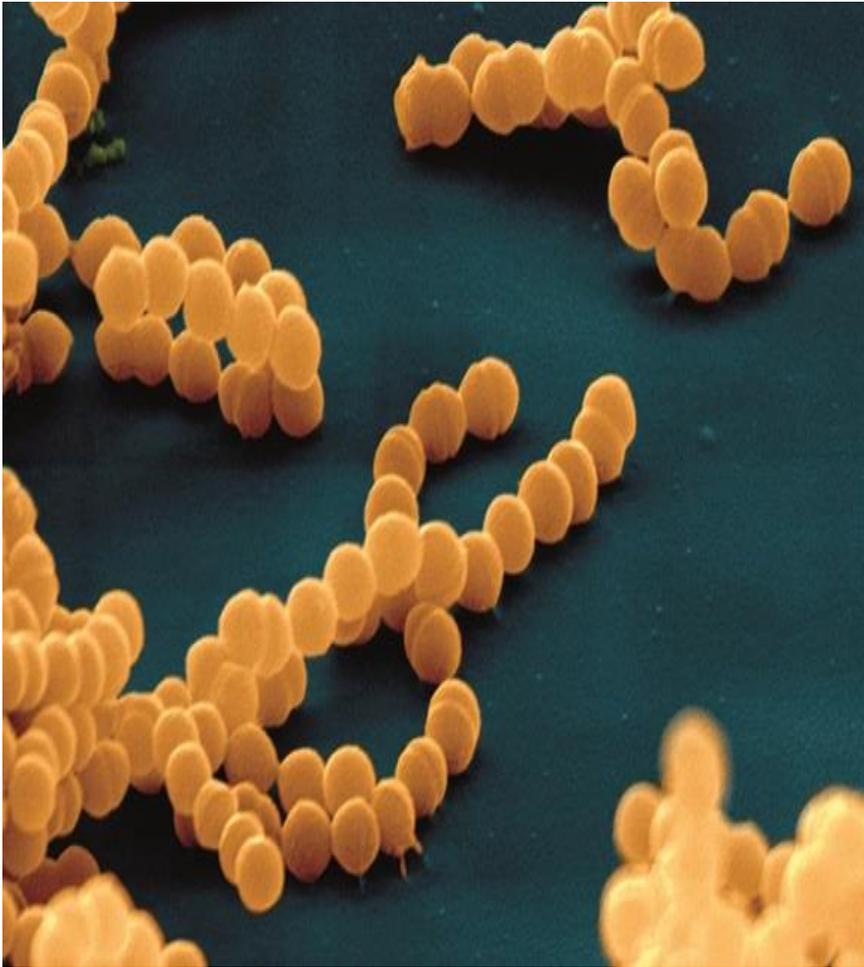
*Treponema pallidum*

# Diplococcos - *Neisseria* (A)

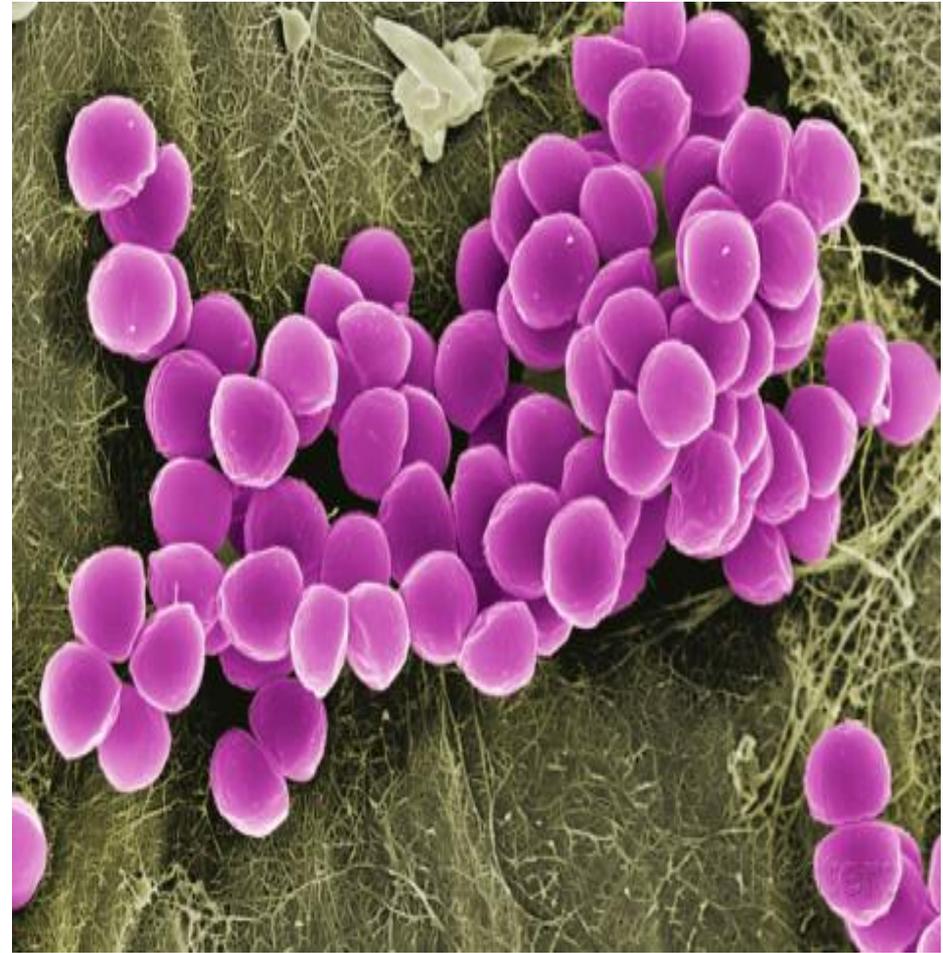
# Diplococcos-*Streptococcus pneumoniae* (B)



# ***Streptococcus***

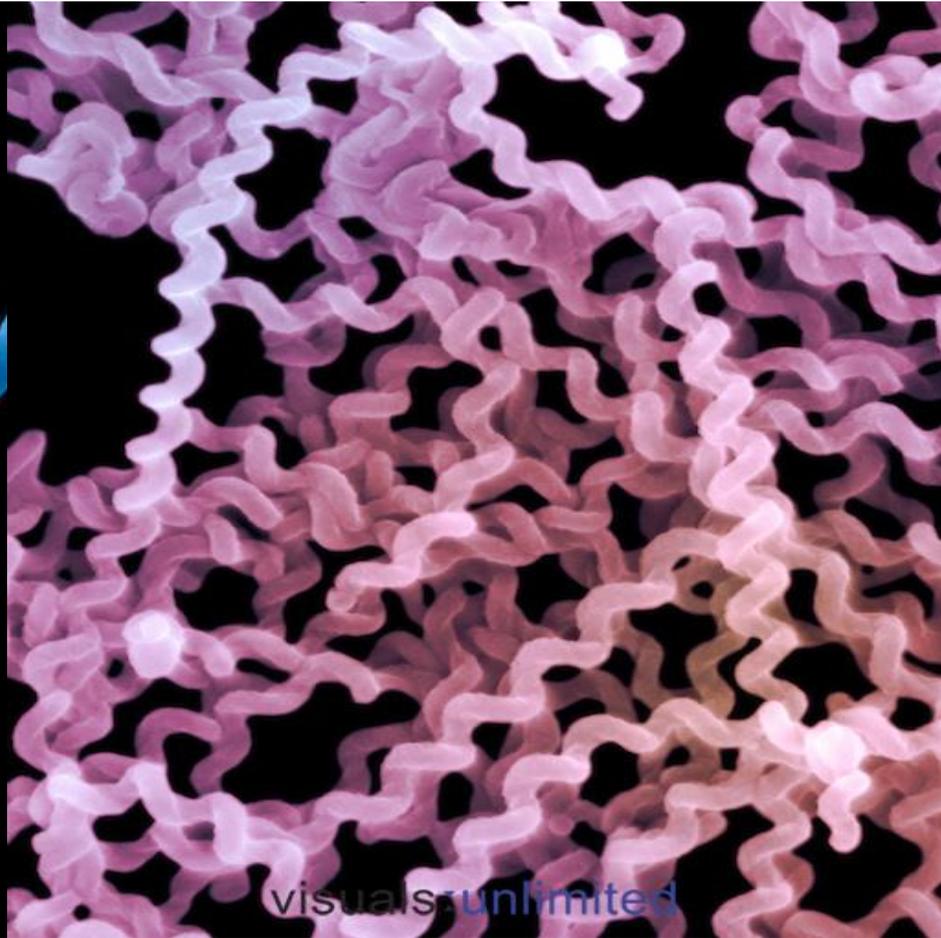
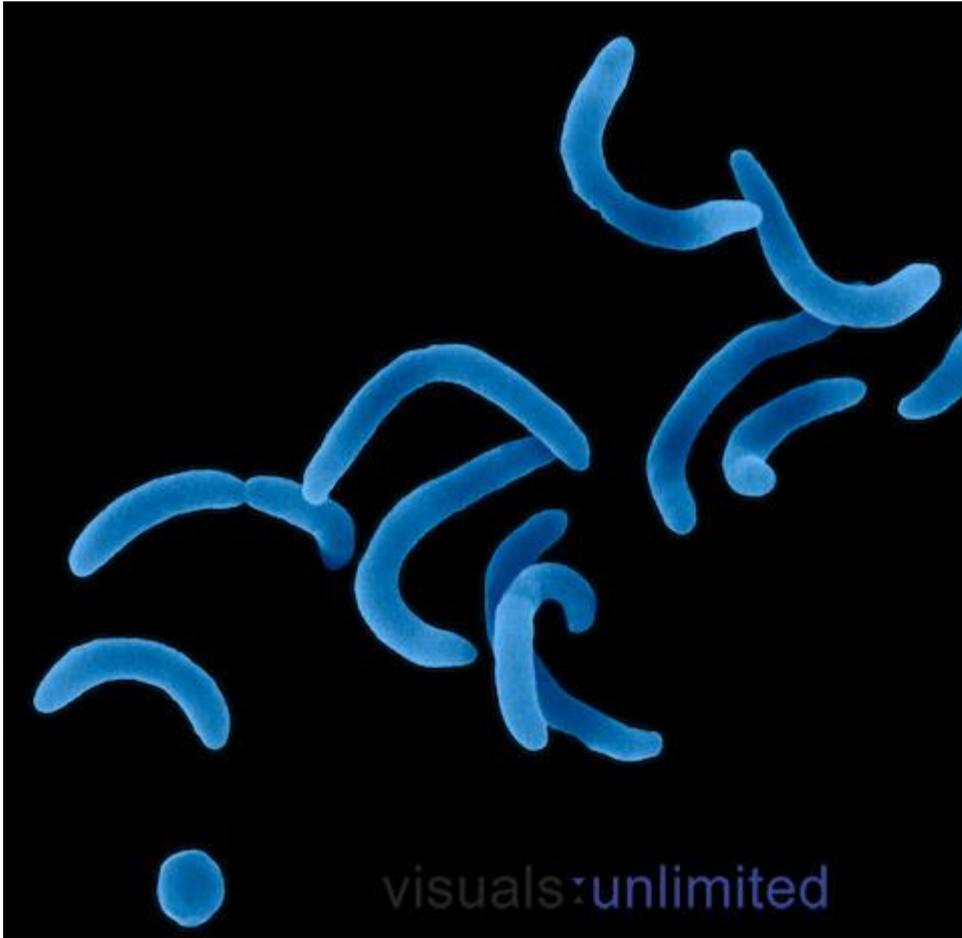


# ***Staphylococcus***



# *Vibrio*

# *Leptospira*



# 8. Biossegurança



# NORMAS A SEREM SEGUIDAS NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA

O uso de AVENTAL branco, comprido e abotoado, é OBRIGATÓRIO no laboratório de aulas práticas, a fim de proteger a roupa de possível contaminação.

As bolsas, pacotes, livros etc., deverão ser colocados embaixo da bancada do laboratório de aulas práticas e **nunca** sobre as bancadas de trabalho.

Não comer no laboratório. Não beber água das torneiras. PROIBIDO USO DE CELULAR.

Manter as mãos, canetas, lápis e quaisquer outros objetos sem contato com a boca ou a face.

Antes de cada aula prática serão dadas as instruções sobre a maneira de executar os trabalhos. Não iniciar um trabalho prático sem haver lido, cuidadosamente, as instruções e compreendido o modo de execução da experiência e seu objetivo. Consultar o professor se encontrar dificuldades para entender ou para executar os trabalhos práticos. Verificar se o material está completo; no caso de falta de algum, dirija-se imediatamente ao professor.

Durante o curso serão utilizados microrganismos **potencialmente** patogênicos para o homem e animais. Não haverá perigo se as técnicas de laboratório forem executadas cuidadosamente.

Em caso de qualquer acidente (derramamento de cultura, por exemplo), comunicar imediatamente ao professor ou ao pessoal técnico do laboratório, para que sejam tomadas as providências necessárias.

# NORMAS A SEREM SEGUIDAS NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA

Todo o material contaminado (pipetas, bastões, lâminas, lamínulas etc.) deverá ser colocado nos recipientes adequados (provetas, cubas com desinfetantes etc.) para ser esterilizado; nunca deixá-lo sobre a mesa de trabalho ou na pia.

A alça ou ponta de platina que se usa para semeadura do material ou repique de culturas deve ser aquecida até o rubro, tanto antes do uso como depois dele. Antes de tocar o material ou meio de cultura, deve-se deixar que a alça ou ponta esfrie, mantendo-a próxima à chama.

Os tubos de cultura deverão ser colocados nas estantes ou suportes adequados e nunca nos bolsos do avental.

O estudante é responsável pelo equipamento com que trabalha. Os microscópios devem ser manuseados cuidadosamente. Qualquer dano ou defeito deve ser imediatamente comunicado ao professor. Após o uso do microscópio limpar a objetiva de imersão, usando lenço de papel.

Após terminar os trabalhos práticos, verificar se as torneiras de água e de gás estão fechadas, as lâmpadas desligadas e os microscópios limpos. Deixar o local de trabalho sempre limpo.

**LAVAR SEMPRE AS MÃOS, APÓS O TRABALHO PRÁTICO**

# Bibliografia

Microbiologia de Brock – 12<sup>o</sup> edição

Microbiologia – Tortora - 10<sup>o</sup> edição