

BMM450: Aula 2B -Morfologias e Estruturas Bacterianas



Nilton Lincopan
ICB/USP

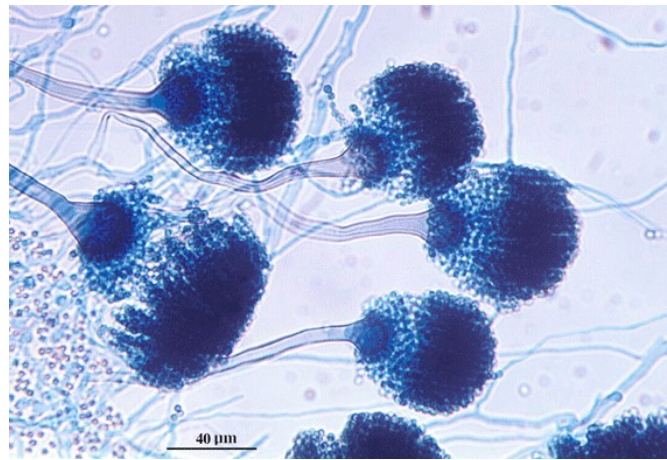
lincopan@usp.br

*All images are believed to be in the public domain. If this is not the case, please email the author at lincopan@usp.br and any images will be promptly removed.

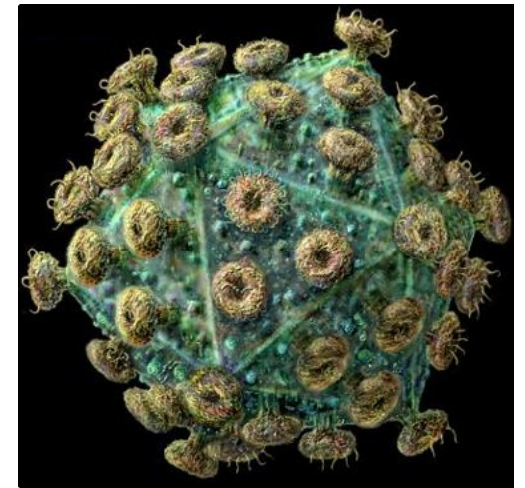
Microbiologia vs Doenças Infecciosas



procariontes
(bactérias)
Bacteriologia



eucariontes
(fungos)
Micologia



vírus
Virologia

Bacteriologia

Ciência que estuda a morfologia, ecologia, genética e bioquímica das bactérias.

Bactérias (do grego *bakteria*, bastão), são organismos unicelulares, procariontes (não apresentam seu material genético delimitado por uma membrana), que podem ser encontrados na forma isolada ou em colônias.

Bacteriologia: história

ANTONY VAN LEEUWENHOEK

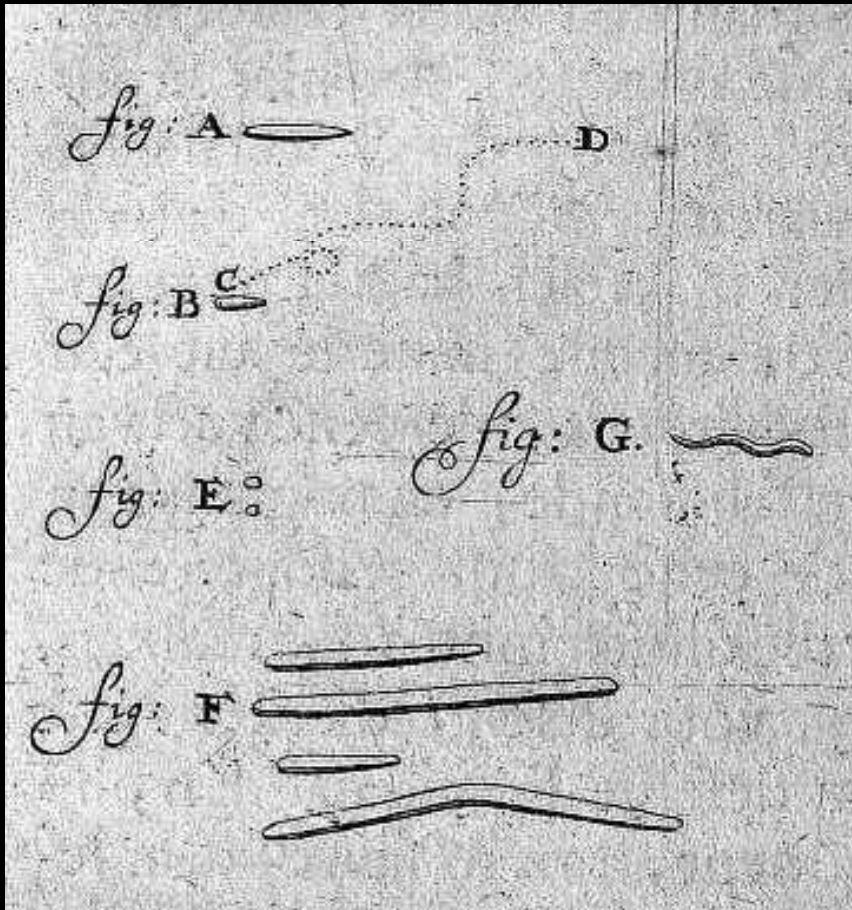


(1632-1723)

- 1674-1723 enviou mais de 200 cartas à *Royal Society*, da Inglaterra
- Suas observações revelaram um mundo até então desconhecido de seres microscópicos, invisíveis a olho nu, protozoários e bactérias “**animalículos**”

Bacteriologia: história

ANTONY VAN LEEUWENHOEK



Bactérias observadas numa amostra de placa dentária:

A: bacilos

B (C-D): motilidade

E: cocos

F: bactéria fusiforme

G: espiroquetas

Royal Society of London **Letter 39**, 17 Sept, 1683

Philos. Trans. R. Soc. London 1684: 14:568-574.

BACTERIOLOGICAL REVIEWS, June 1976, **40**:260-269

CARACTERÍSTICAS USADAS NA CLASSIFICAÇÃO

Fenotípicas: Inclui características:

- ✓ Morfológicas
- ✓ Coloração
- ✓ Estruturais
- ✓ Nutritivas
- ✓ Metabólicas
- ✓ Sensibilidade a antibióticos

Bacterioscopia

Morfologia Bacteriana

As bactérias têm formas características (cocos, bacilos, espiral, etc), e frequentemente se agrupam formando pares, cadeias, tetradas, e *clusters*).

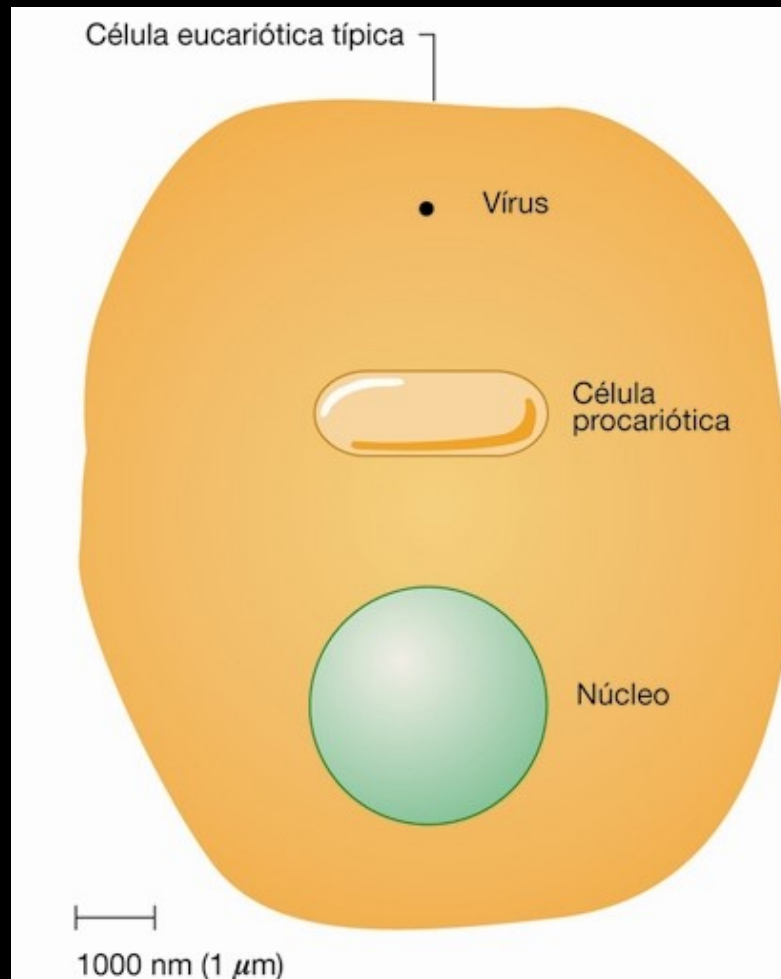
Estes conceitos são típicos para um gênero e tem utilidade diagnóstica.

Observação ao Microscópio (Bacterioscopia)

Critérios:

- Tamanho
- Forma
- Arranjo
- Coloração

Tamanho/Morfologia Bacteriana



Bacillus megaterium
1,5 x 4 μm



Escherichia coli
1 x 3 μm



Streptococcus pneumoniae
0,8 μm de diâmetro



Haemophilus influenzae
0,25 x 1,2 μm



Coccus



Coccobacillus



Vibrio



Bacillus



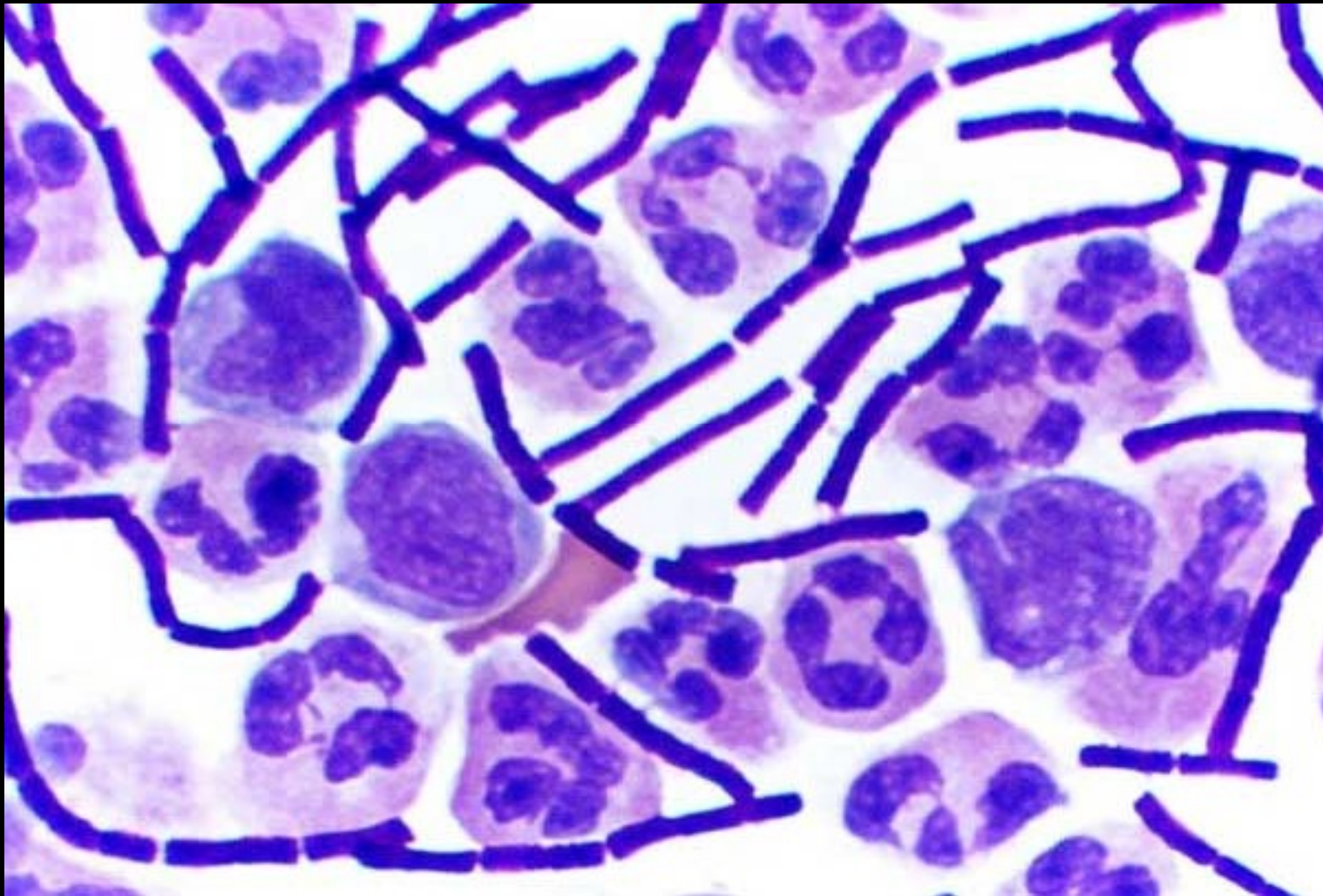
Spirillum



Spirochete

Unidade de medida: micrômetro (μm). 1 μm = 10^{-3} mm ou 10^{-6} m

Bacterioscópico sangue



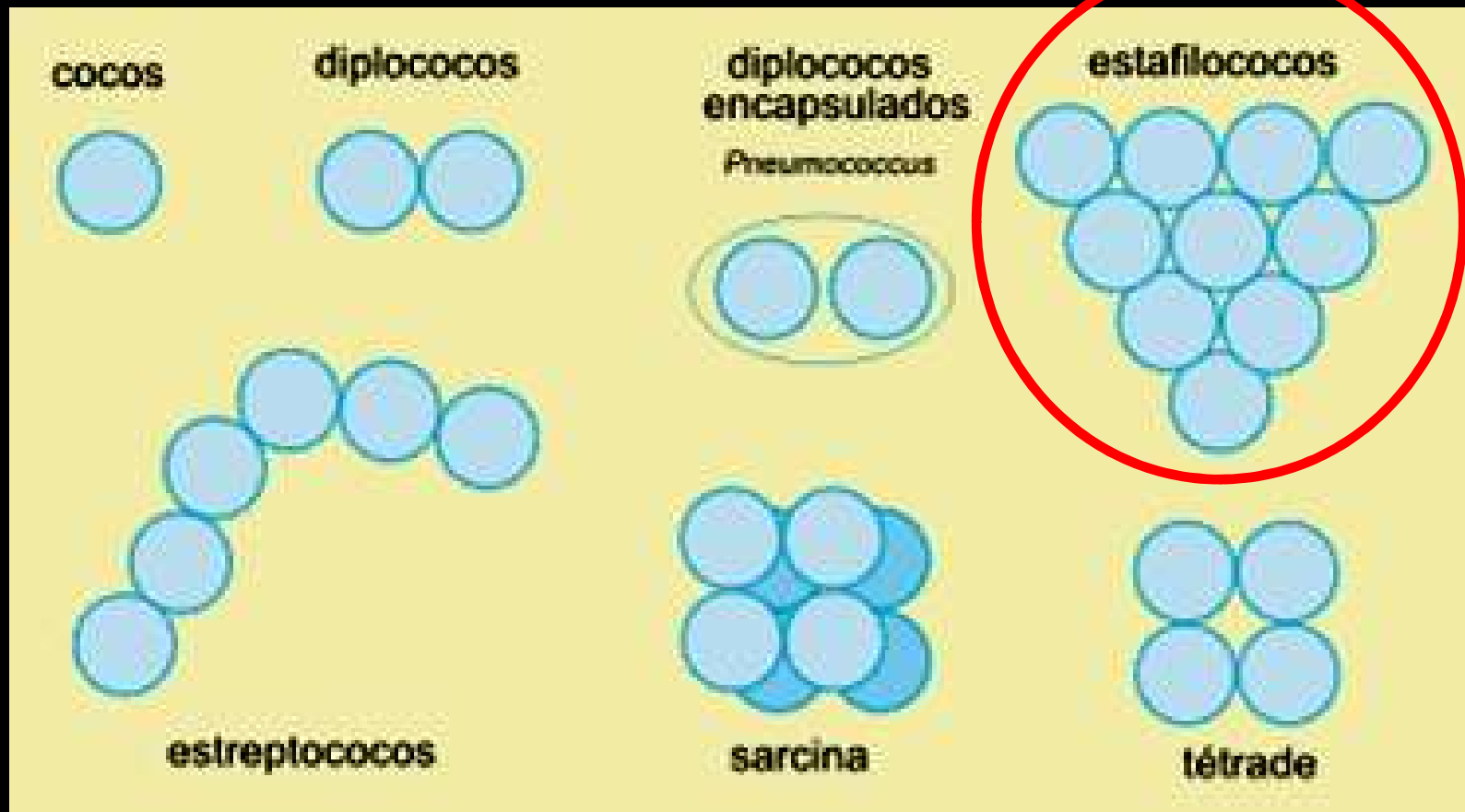
Bacilos do gênero *Bacillus*

NOMENCLATURA

- É regida pelo código internacional de nomenclatura bacteriana → **Manual de Bergey** (Livro referencia para classificação e identificação bacteriana)
- O nome do gênero e das espécies é sempre escrito em *itálico* e na falta deste tipo de letra, o nome é sublinhado.

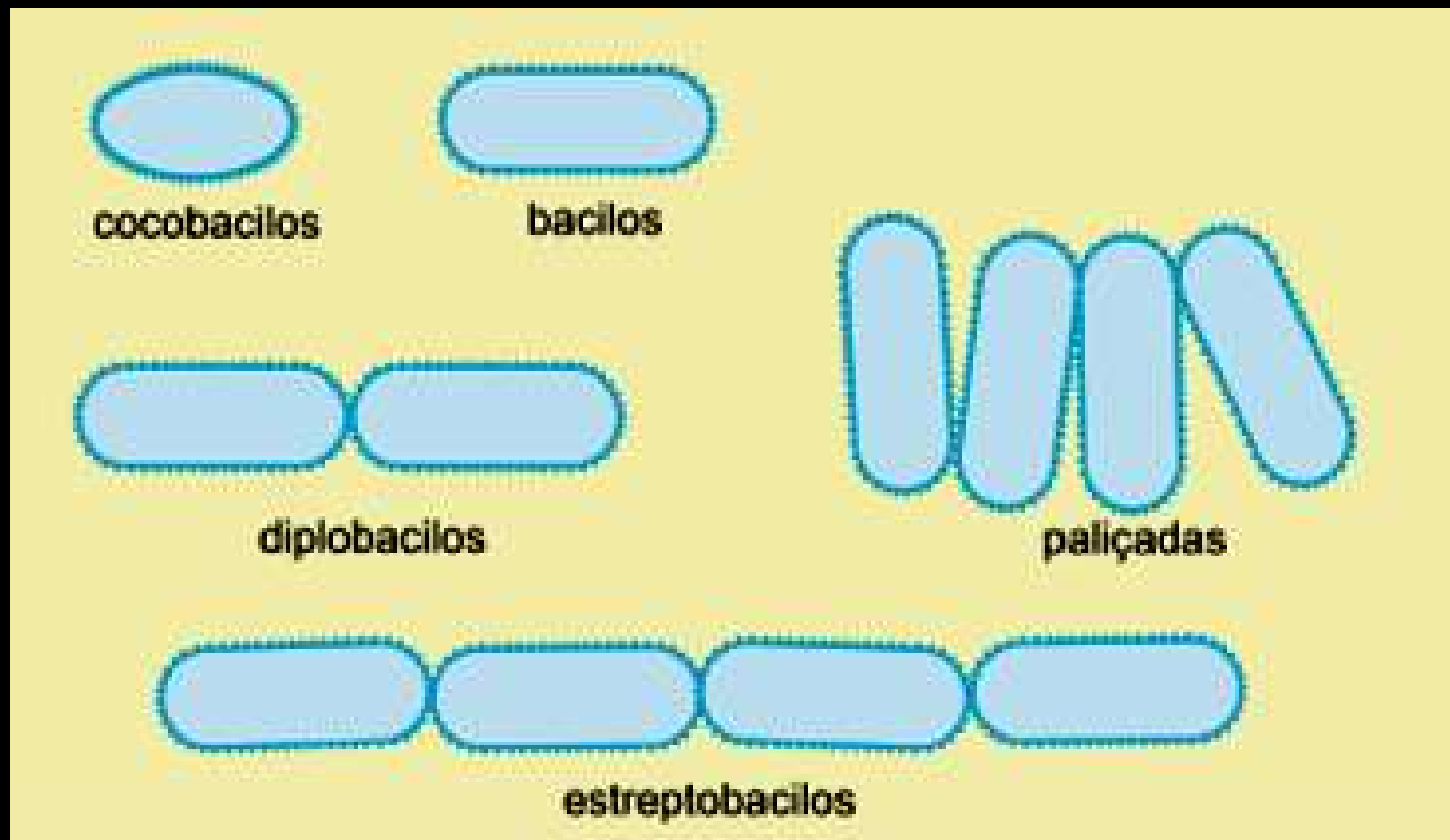
Bactérias: Forma

Cocos



Bactérias: Forma

Bacilos



Bactérias: Forma



Bactérias: Forma



espirilo
Borrelia burgdorferi

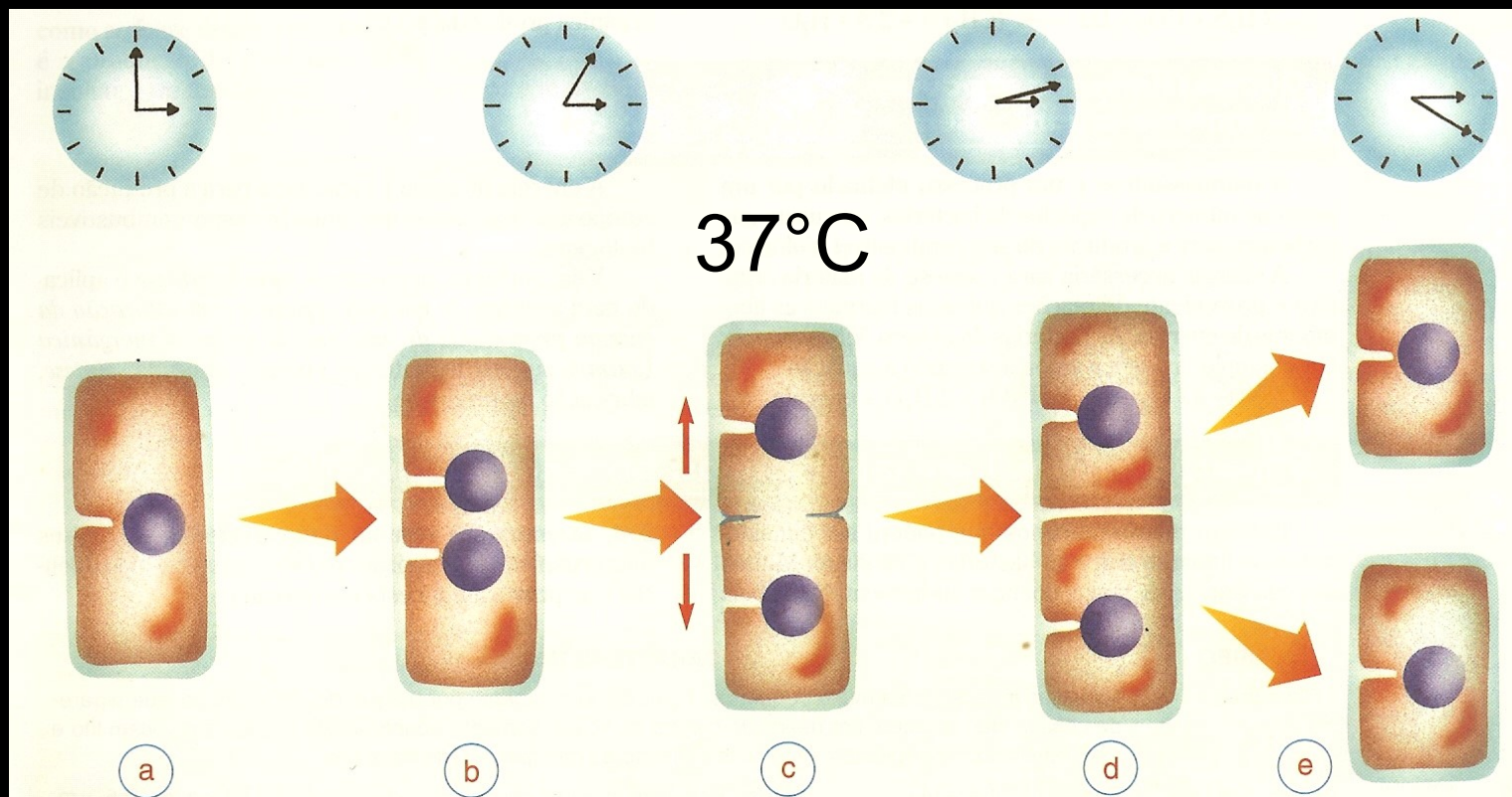


espiroqueta

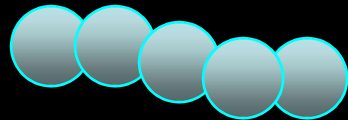
Reprodução Bacteriana

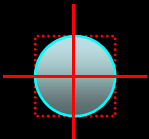
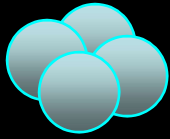
Divisão Binária

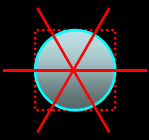
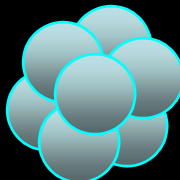
- Reprodução assexuada

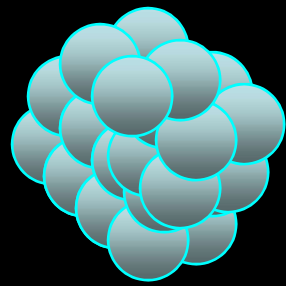


Arranjo

Um plano ←  →  estreptococos

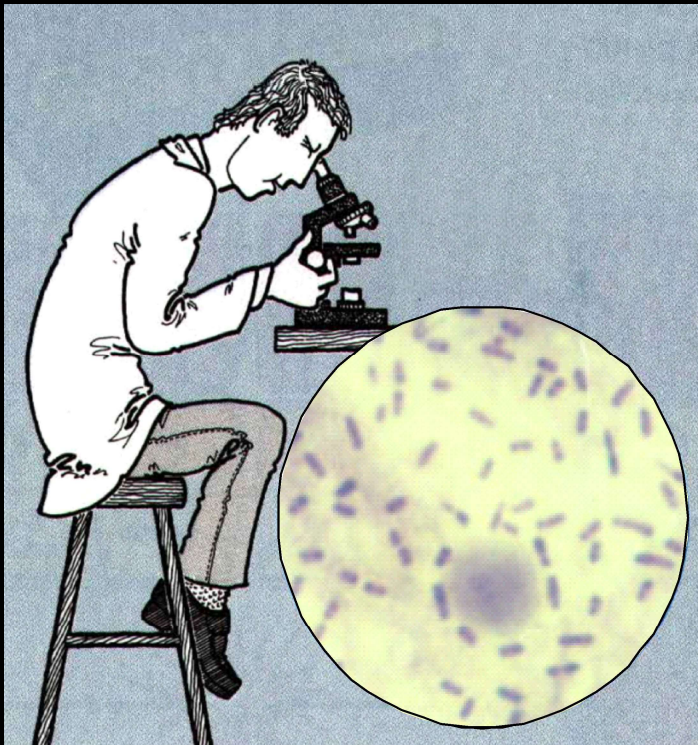
Dois planos ←  →  tétrade

Três planos ←  →  sarcina

Vários planos →  estafilococos

Bactérias: observação

1. Aumento da Imagem
(Microscópio)

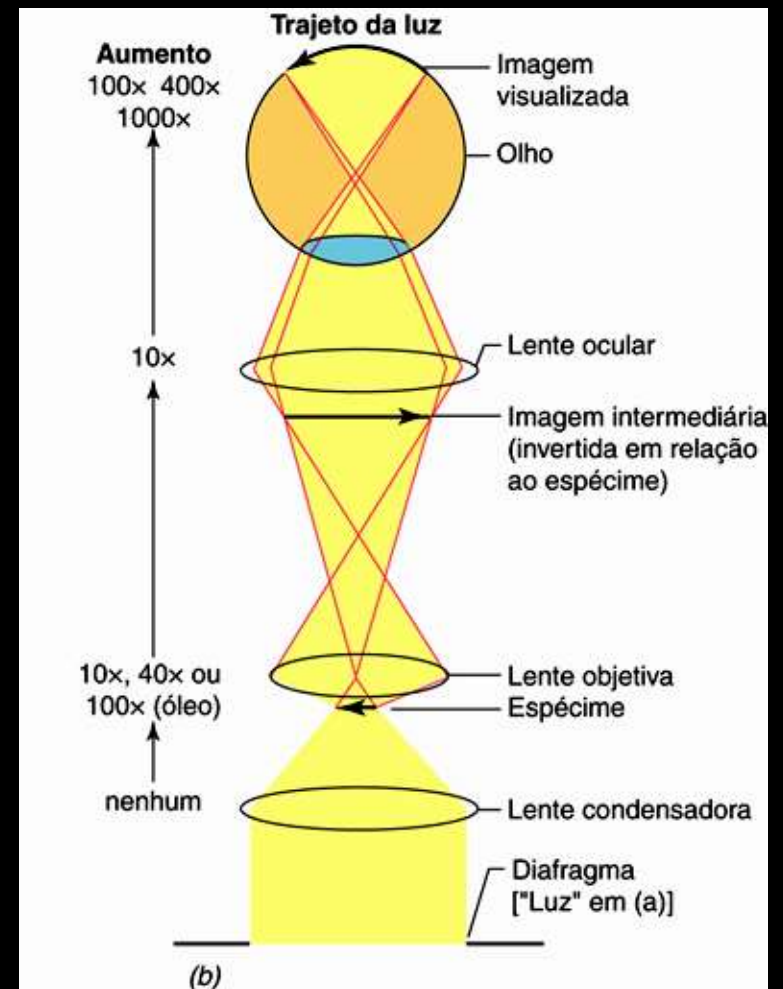
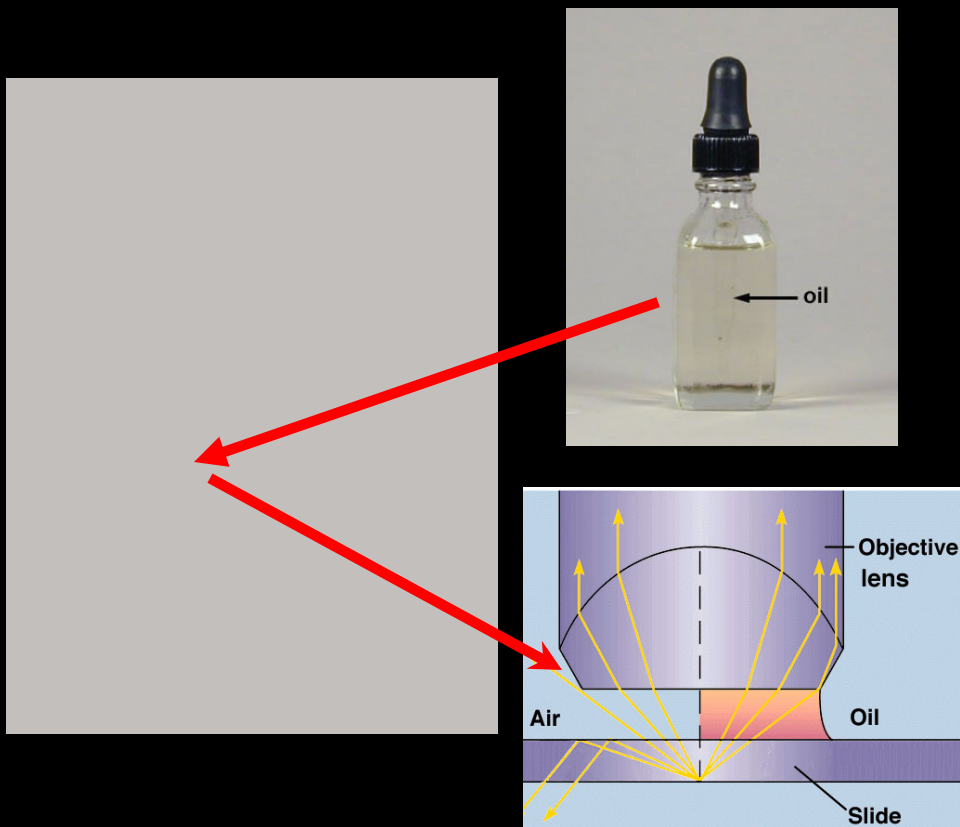


2. Cultivo - Aumento do número de indivíduos
(olho nu)



Observação ao Microscópio Óptico

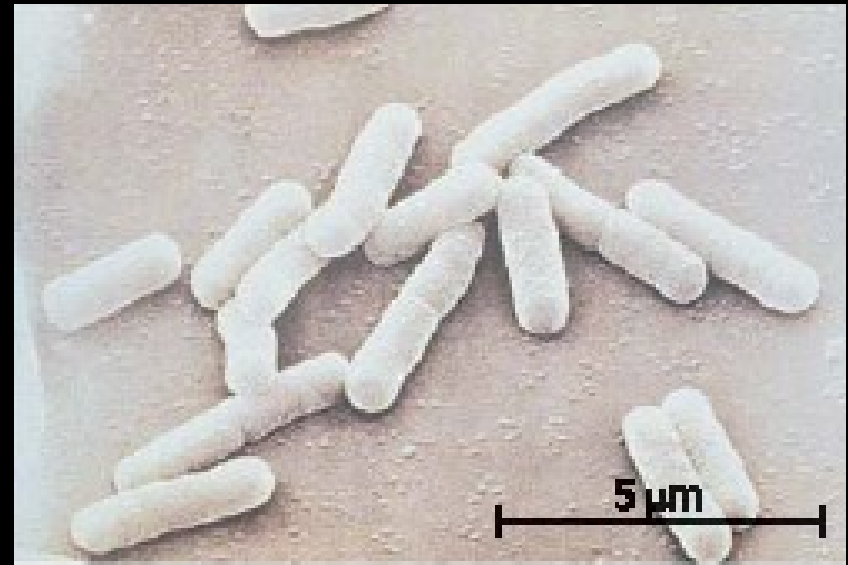
Com objetiva de Maior aumento:
(Objetiva de Imersão 100x)



Bactérias: morfologia microscópica

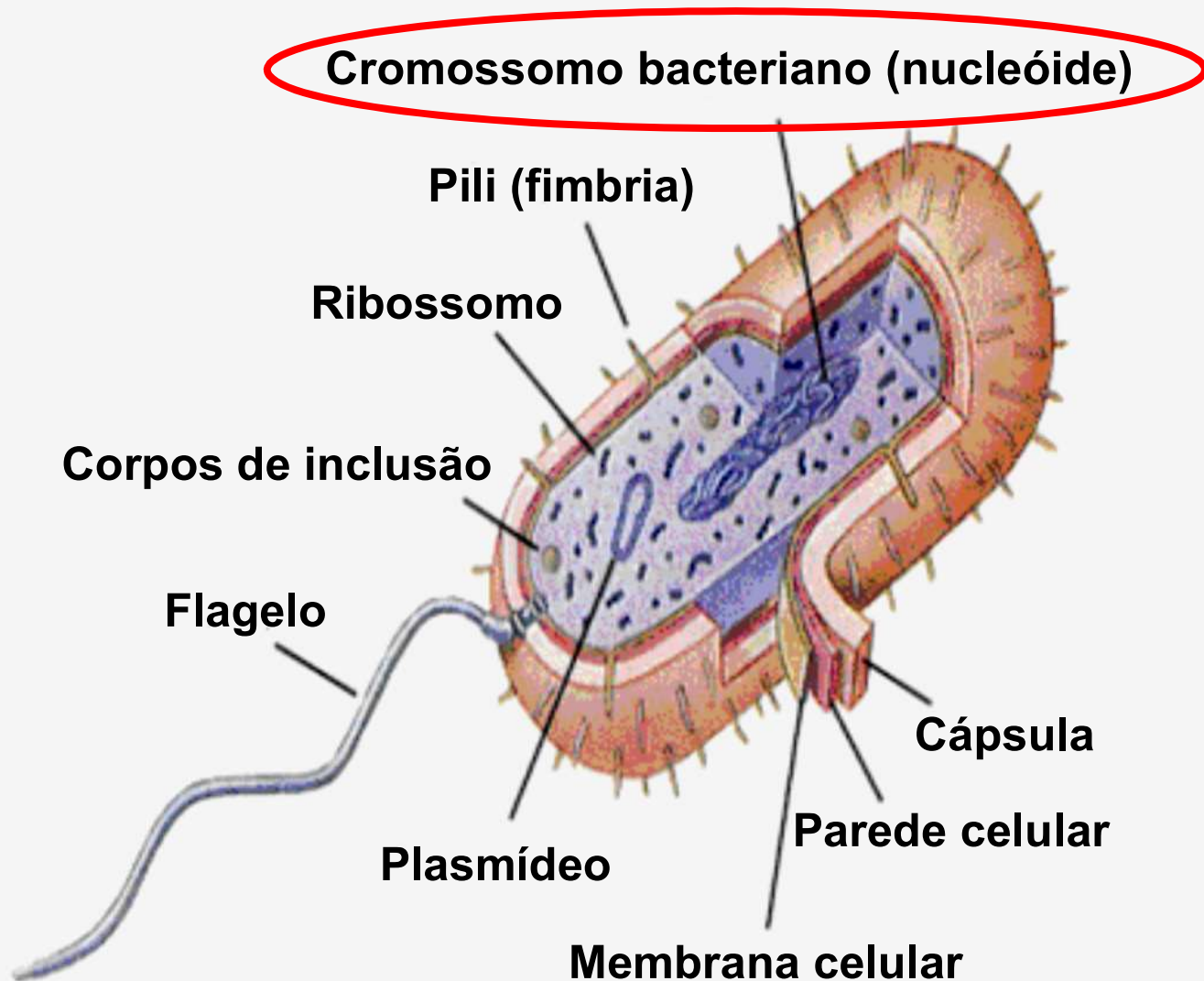


Staphylococcus aureus

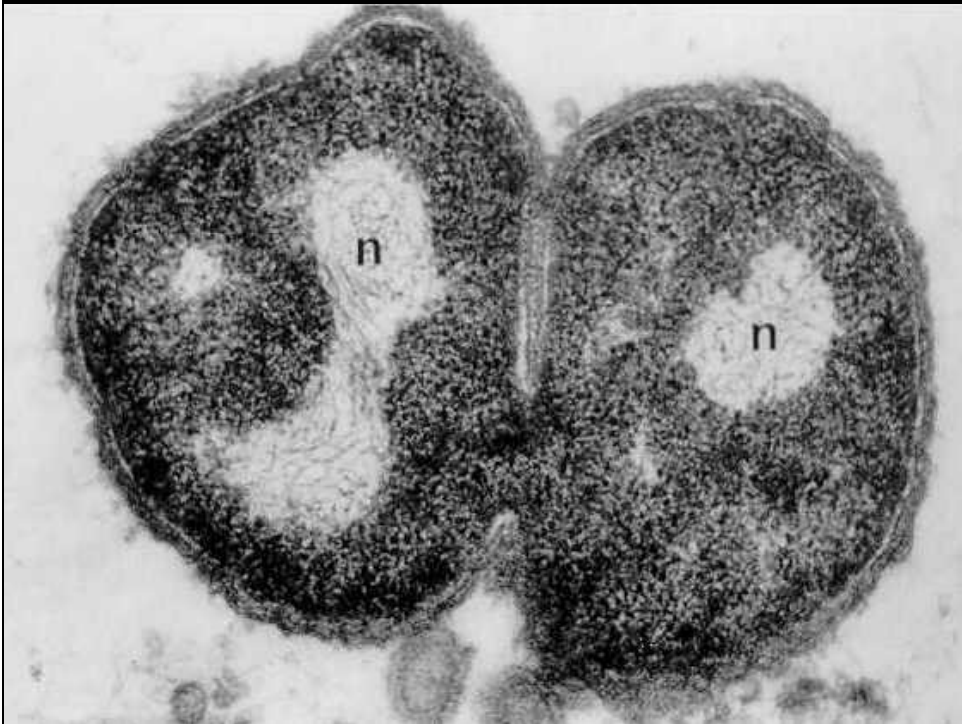


Escherichia coli

Estruturas bacteriana



Estrutura Bacteriana: Nucleóide

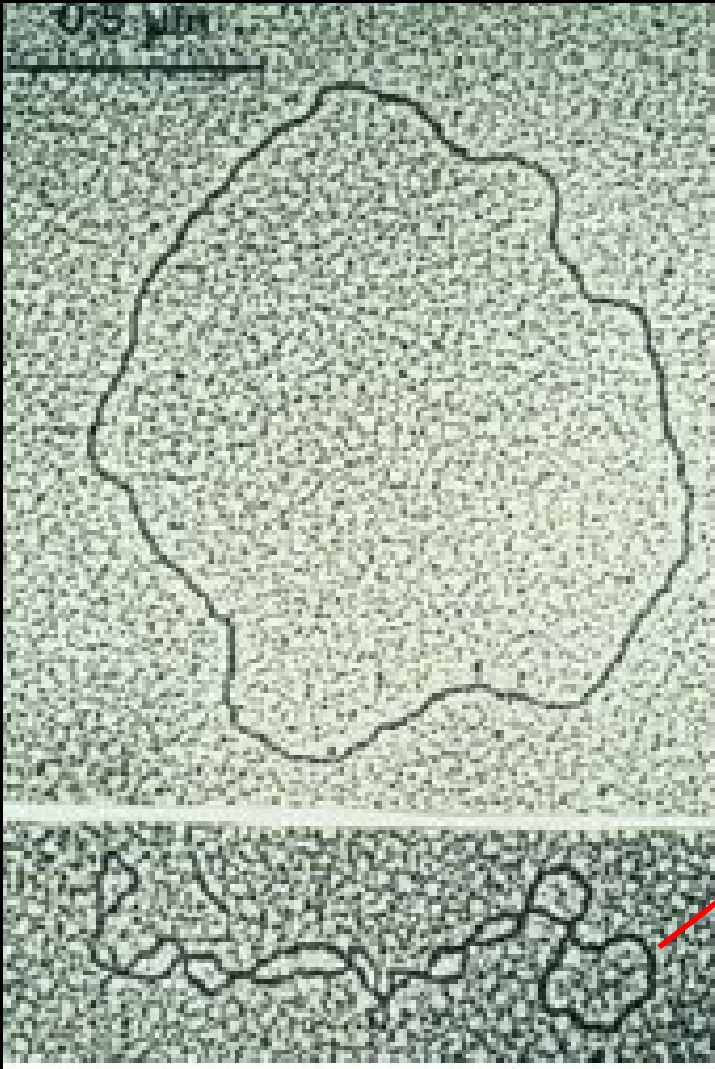


Microscopia eletrônica de *Neisseria gonorrhoeae*

Emaranhado de DNA circular sem membrana nuclear.

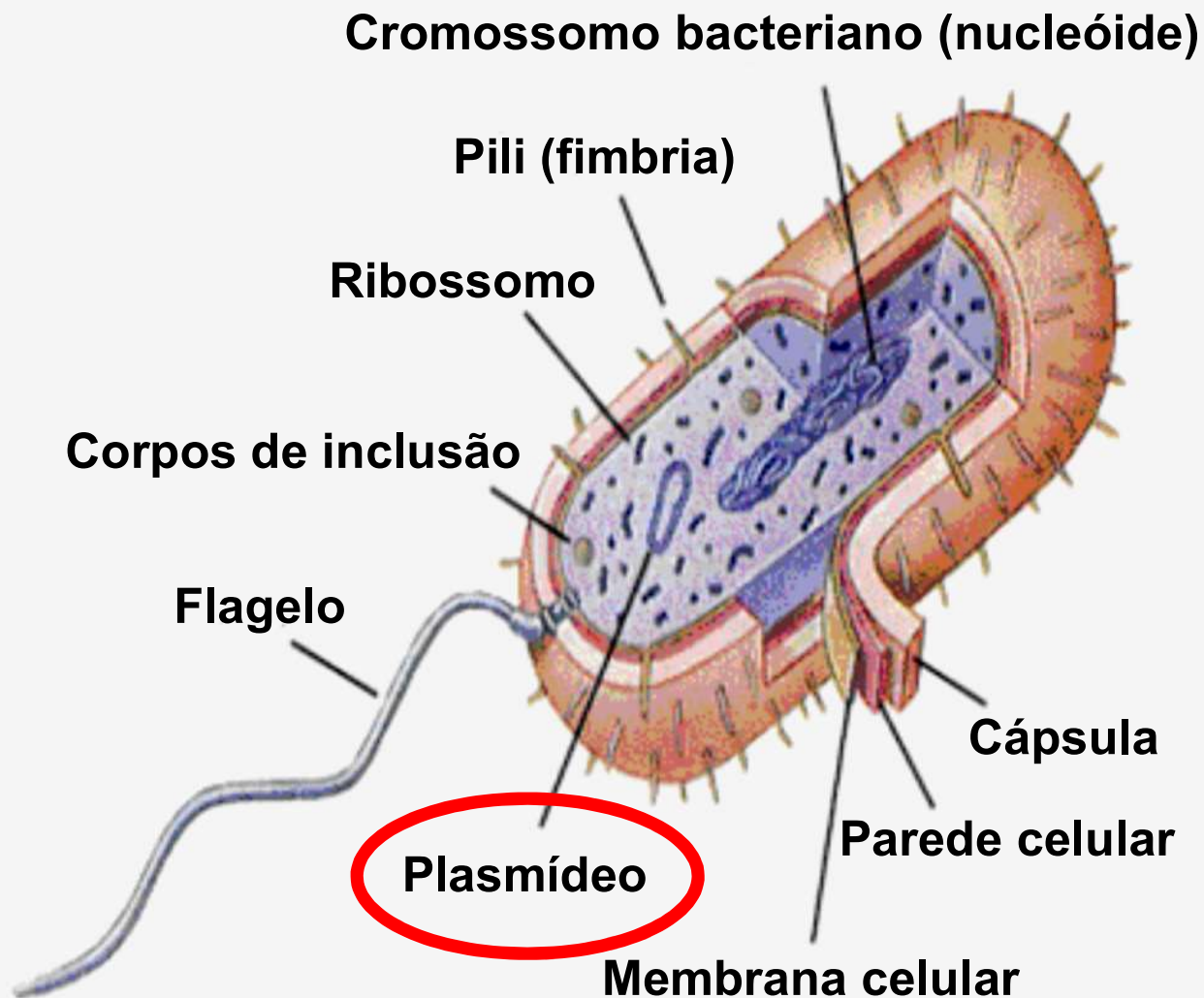
Em *Escherichia coli*, o genoma tem quase 5 milhões de pares de bases (o genoma humano tem 3 mil milhões de pares de bases).

Estrutura Bacteriana: DNA

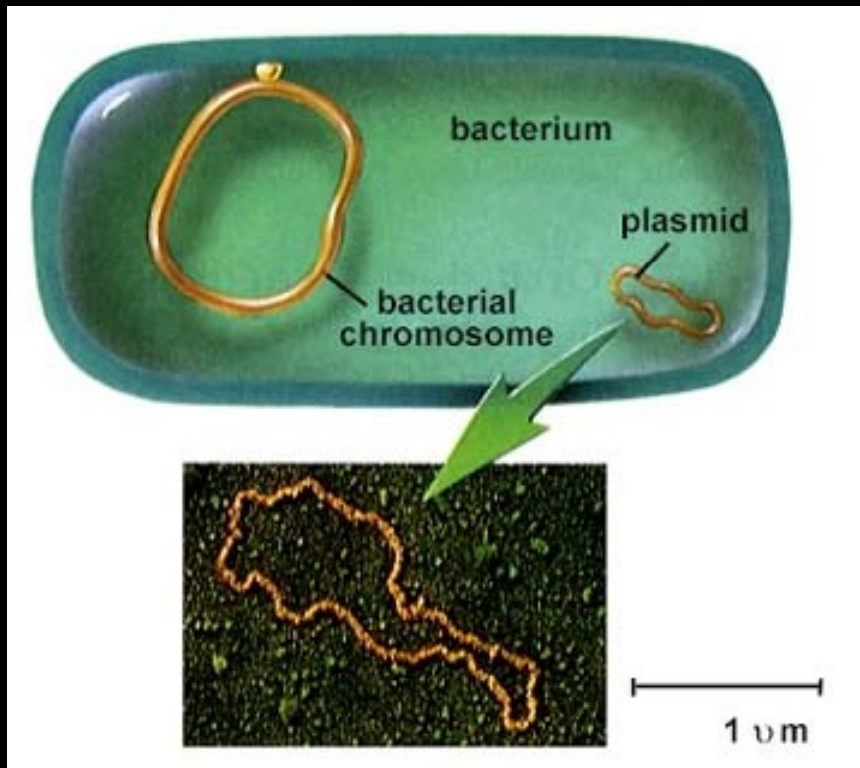


DNA girase e topoisomerase IV são topoisomerasas que permitem que o DNA de dupla fita tenha uma forma super enrolada (*supercoiled*)

Estrutura bacteriana



Estrutura Bacteriana: plasmídeos

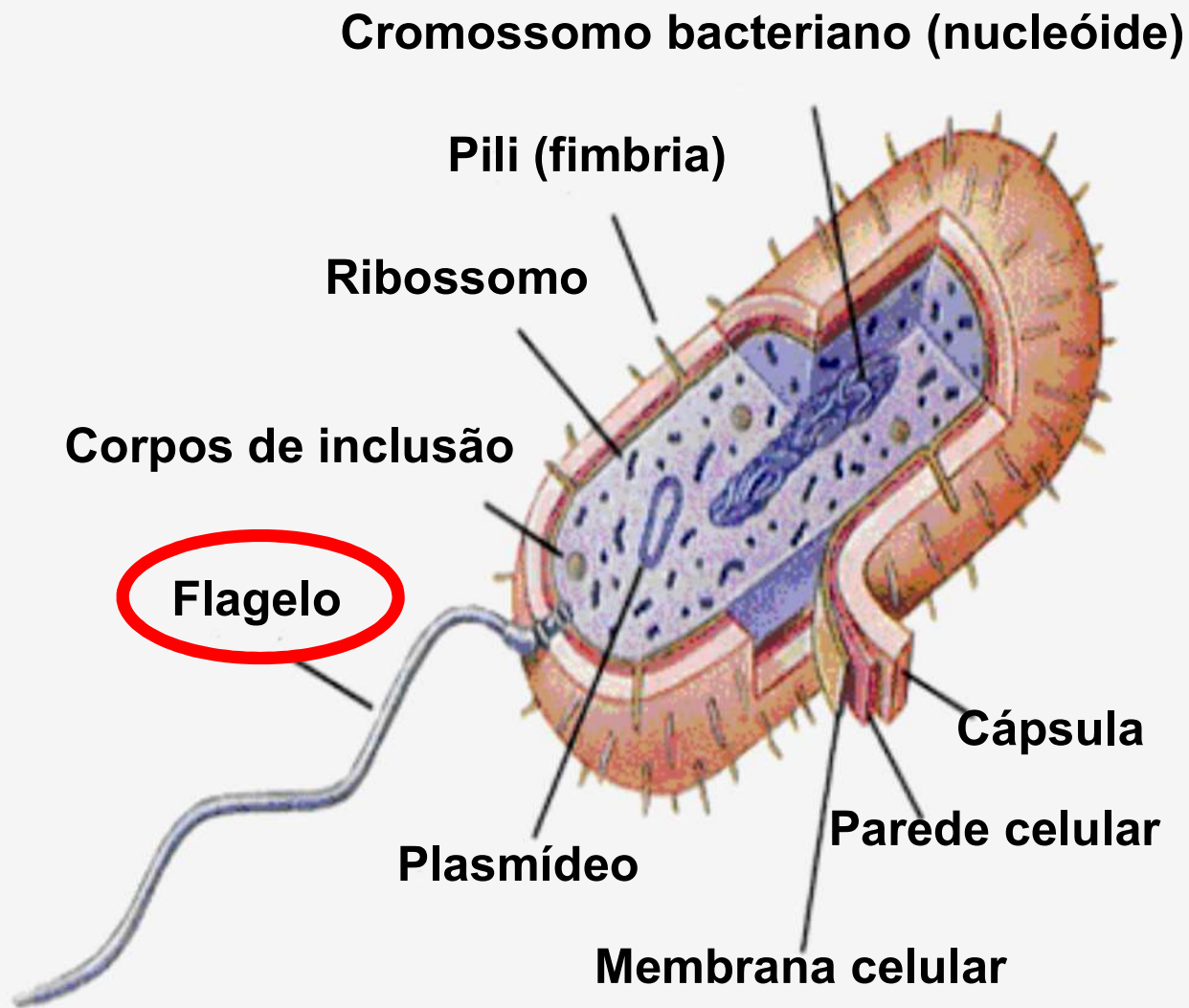


Os plasmídeos circulares são pequenas moléculas de DNA que coexistem com o nucleóide. **Geralmente são transferidos na reprodução sexuada.** Os plasmídeos carregam **genes de resistência** aos antibióticos e **genes de virulência**.

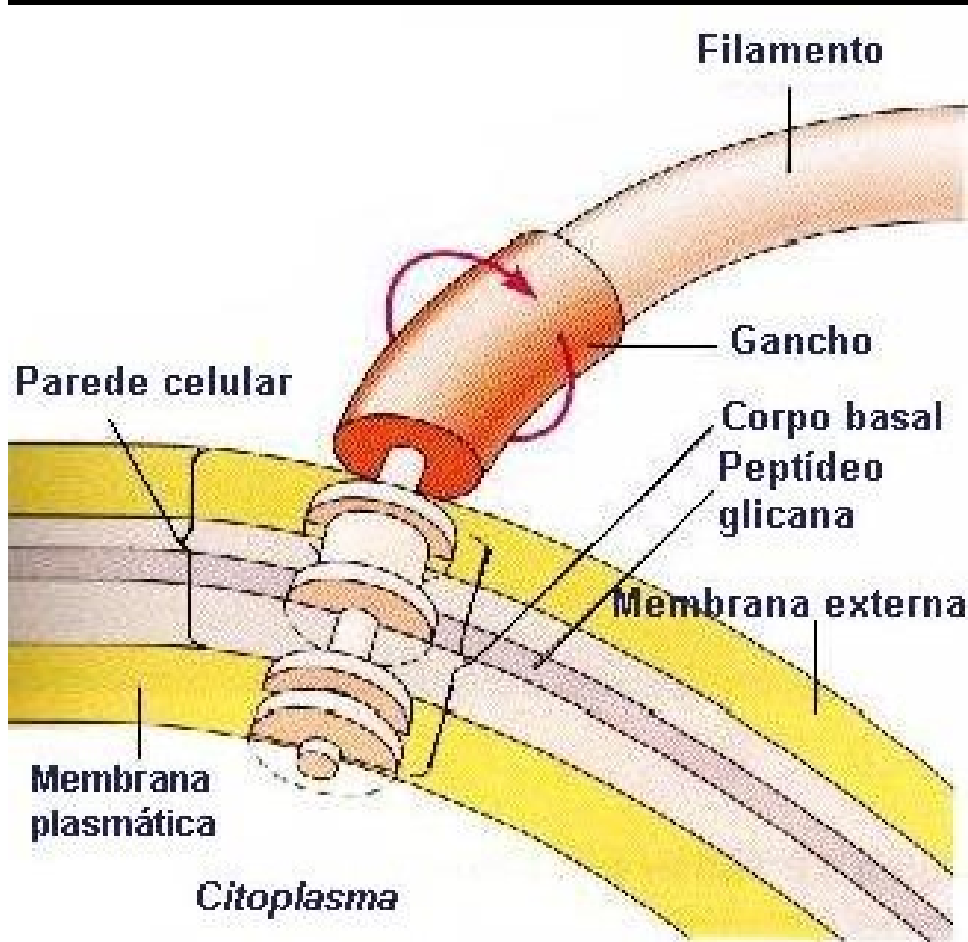
Estrutura Bacteriana: plasmídeos = resistência



Estrutura bacteriana



Estrutura bacteriana: flagelo



1) Filamentos protéicos da superfície bacteriana utilizados para **mobilização (quimiotaxis)**.

2) 3 – 12 μm comprimento x 12 – 30 nm diâmetro

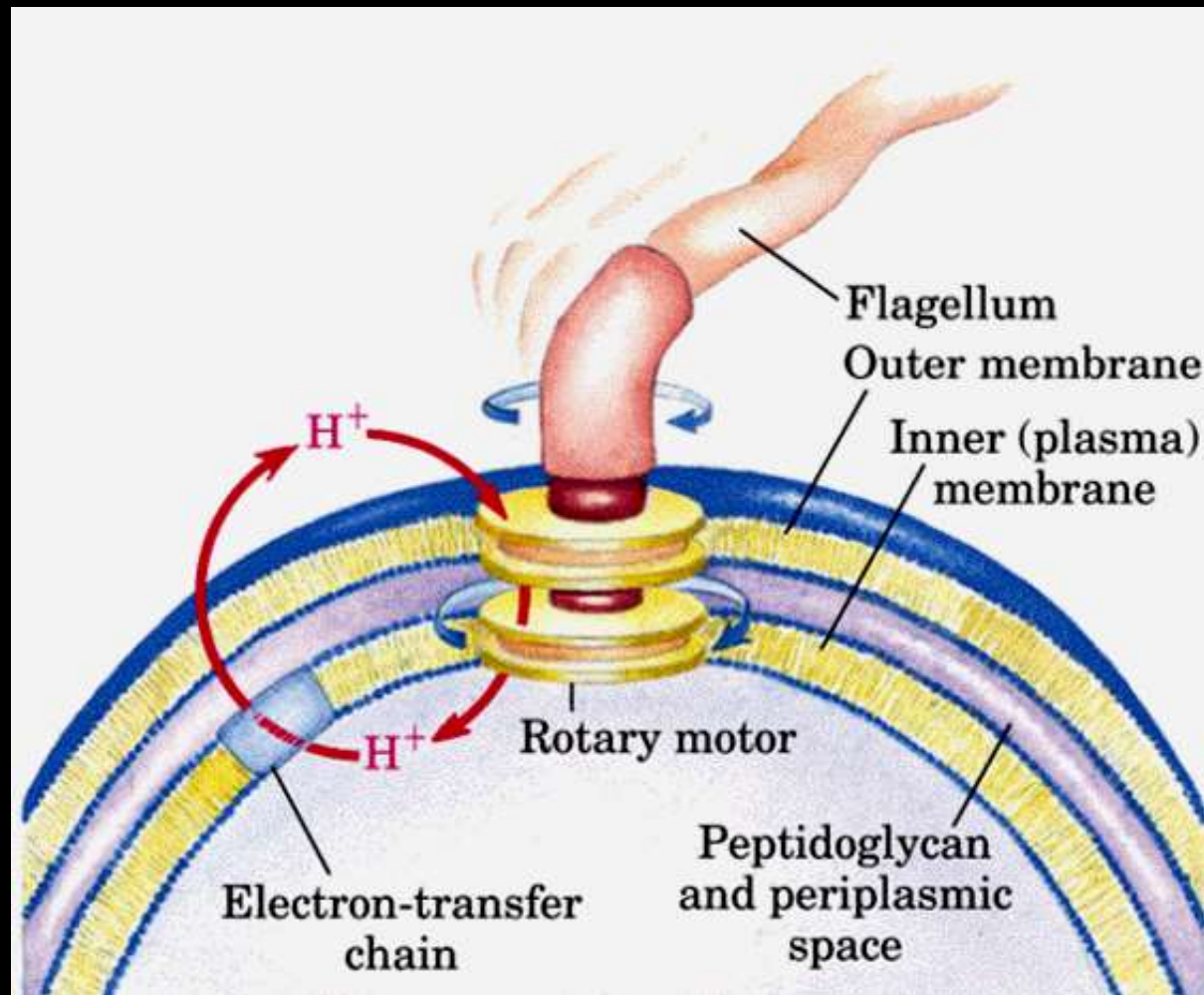
3) Formado por: filamento, gancho, e corpo basal

4)Imunogênico (antígenos H)

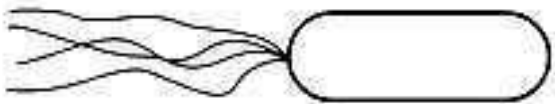
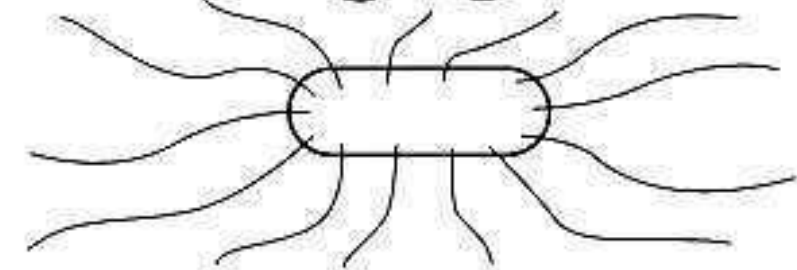
Estrutura bacteriana: flagelo



Estrutura bacteriana: flagelo

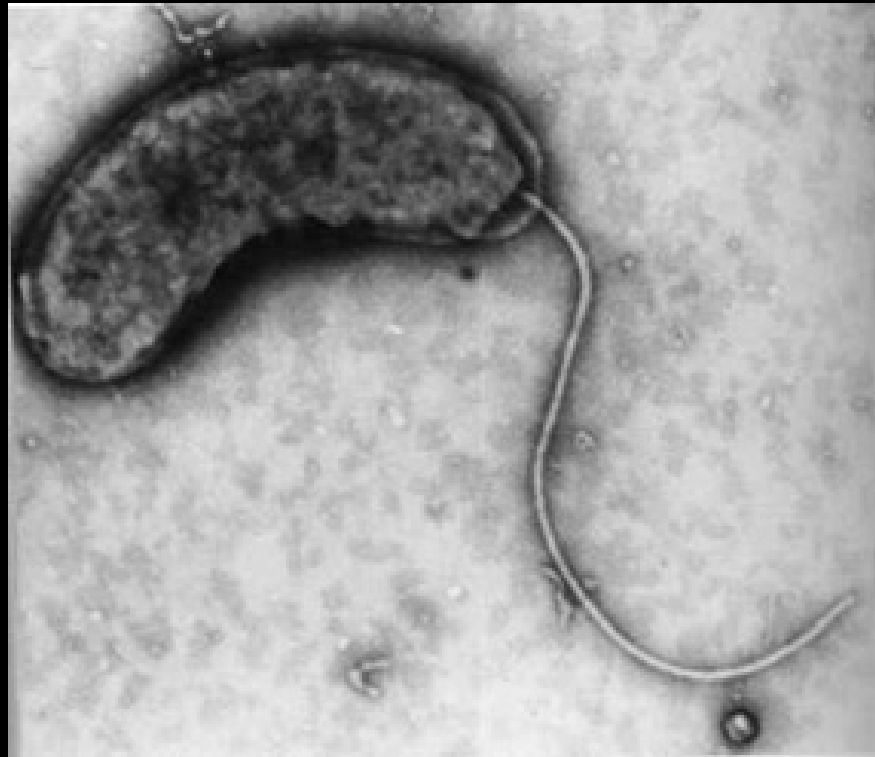


Estrutura bacteriana: flagelo

Estrutura	Tipo de flagelo	Exemplo
	Monotríqueo	<i>Vibrio cholerae</i>
	Lofotríqueo	<i>Bartonella baciliformes</i>
	Anfitríqueo	<i>Spirillum serpens</i>
	Peritríqueo	<i>Escherichia coli</i>

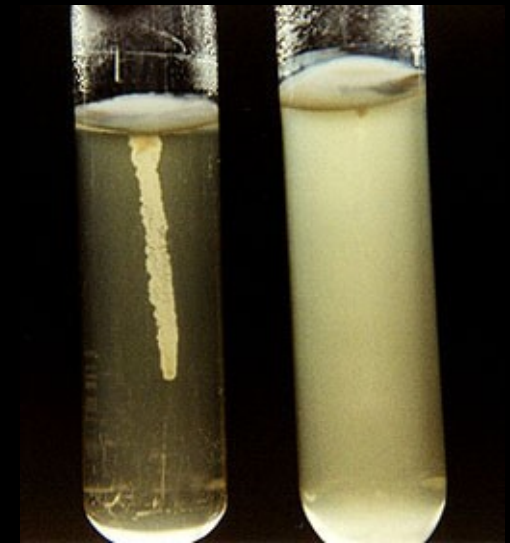
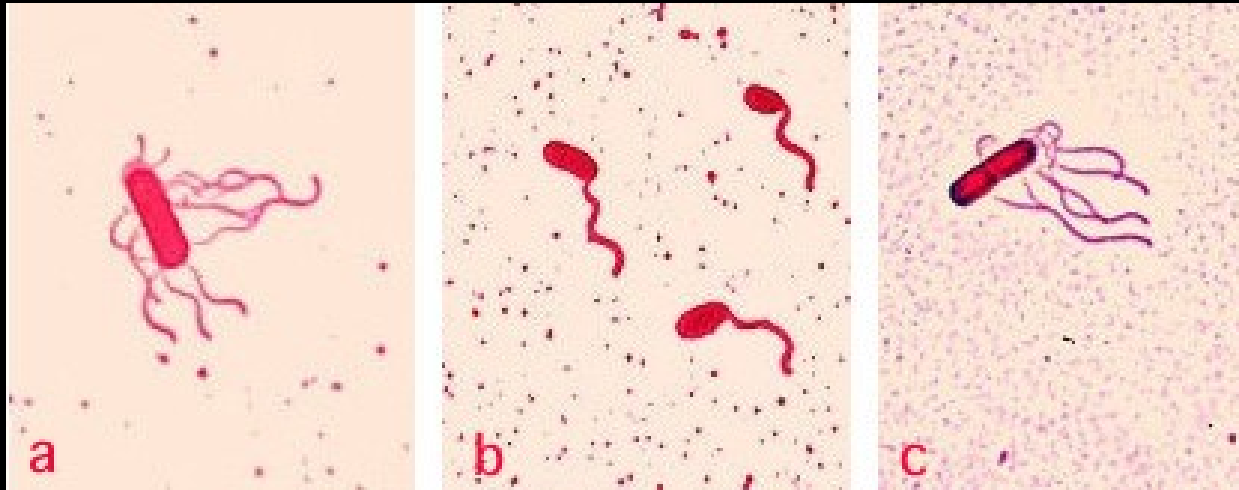
O número e distribuição de flagelos são característicos para algumas espécies, sendo úteis para a identificá-las.

Estrutura bacteriana: flagelo



Flagelo monotríqueo: *Vibrio cholera*

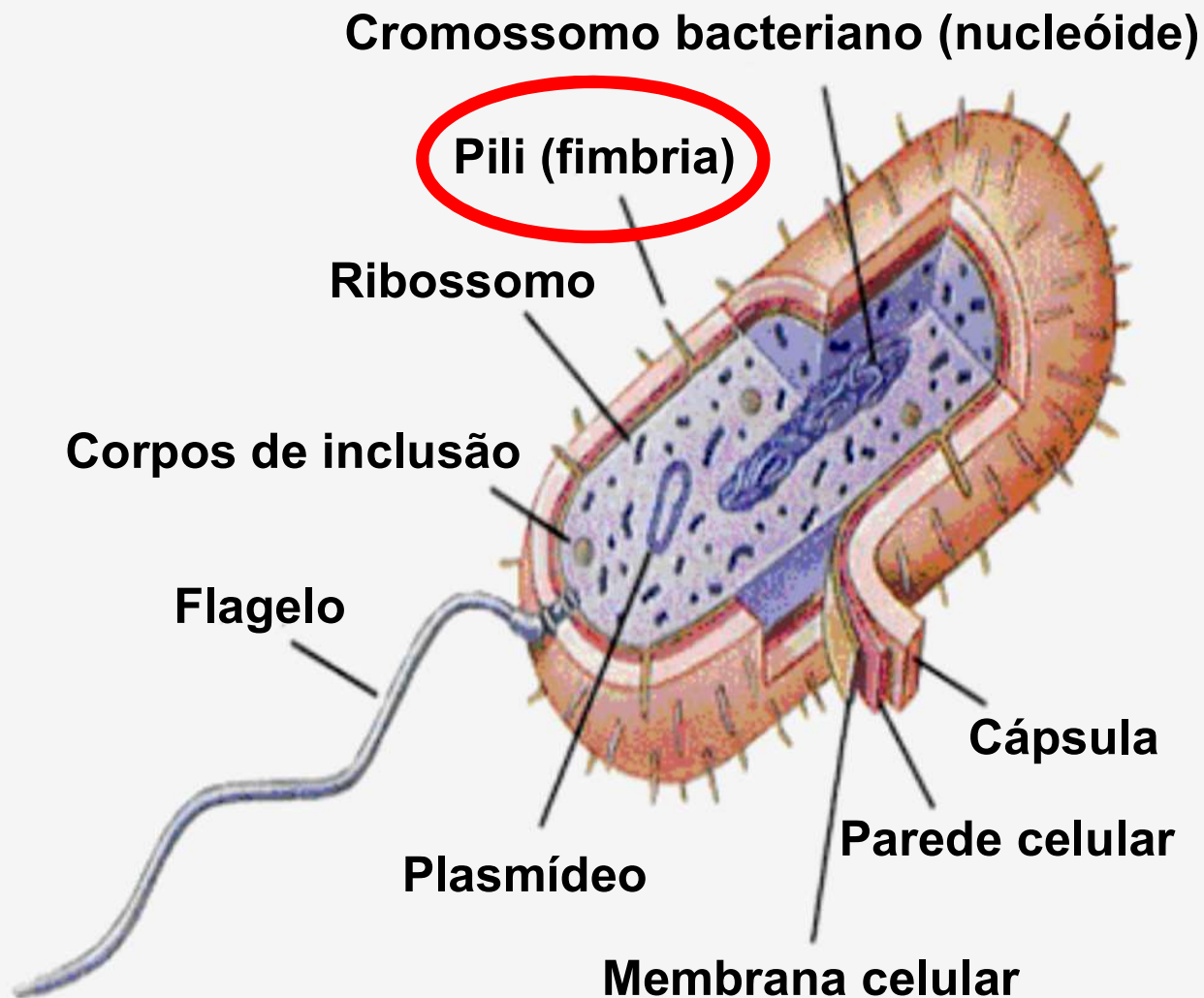
Estrutura bacteriana: flagelo



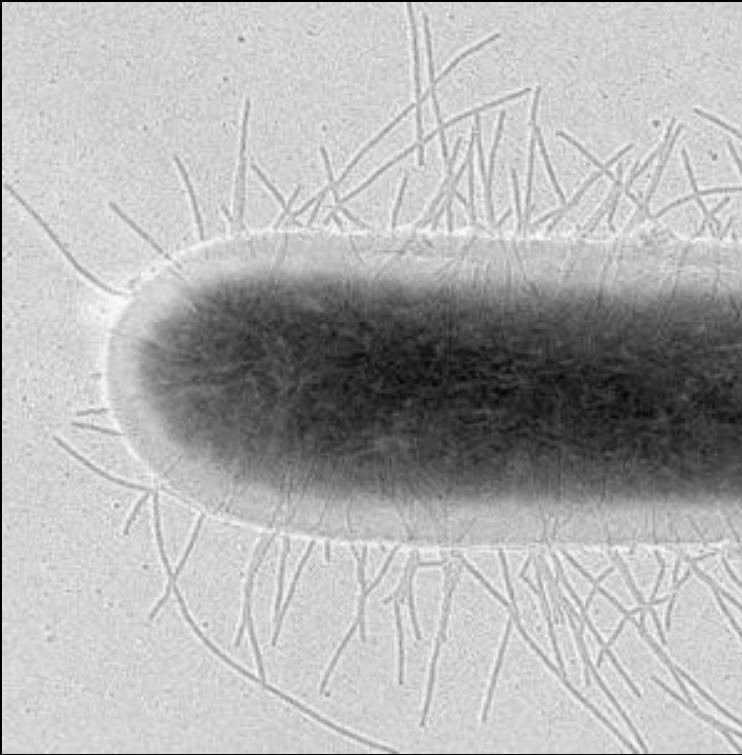
Coloração de flagelos: a) *Bacillus cereus*; b) *Vibrio cholerae*; c) *Bacillus brevis*. **Coloração de Leifson** (corantes e outros compostos precipitam ao longo do flagelo aumentando seu diâmetro efetivo).

Motilidade positiva (direita); motilidade negativa (esquerda).
E. coli.

Estrutura bacteriana



Estrutura bacteriana: pili



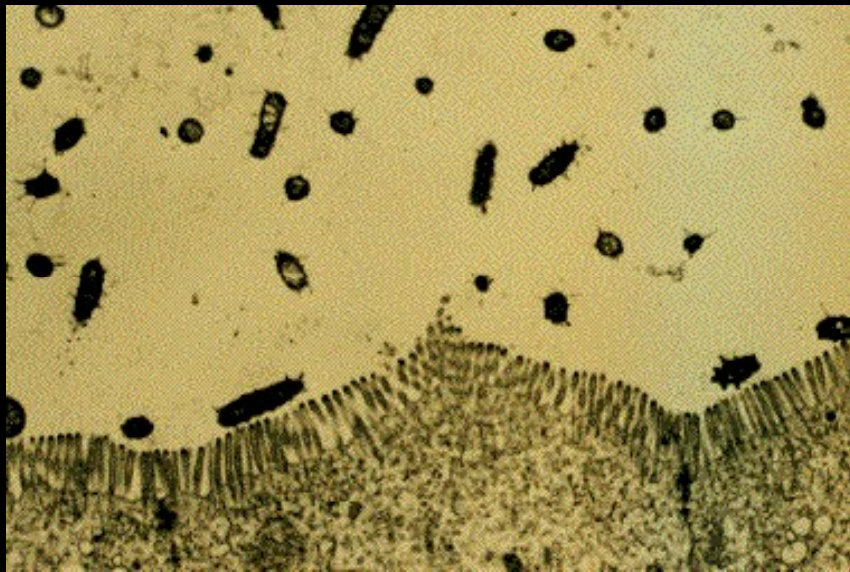
Filamentos protéicos rígidos

1,5 nm de largura x 4-8 nm comprimento

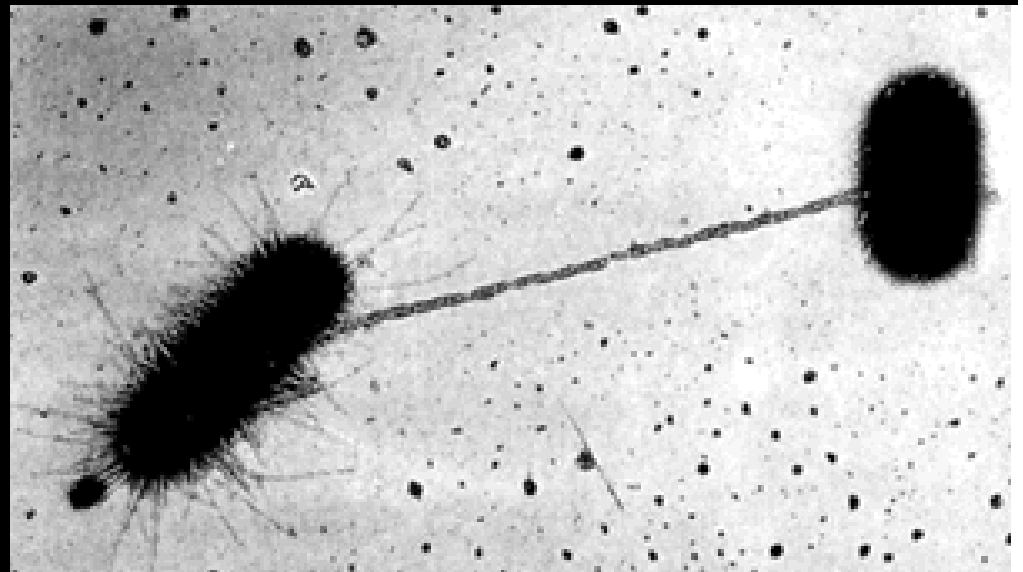
Pili de adesão (curto, fator de colonização) com especificidade de receptor.

Pili sexual (longo, transferência de plasmídeos conjugativos)

Estrutura bacteriana: pili

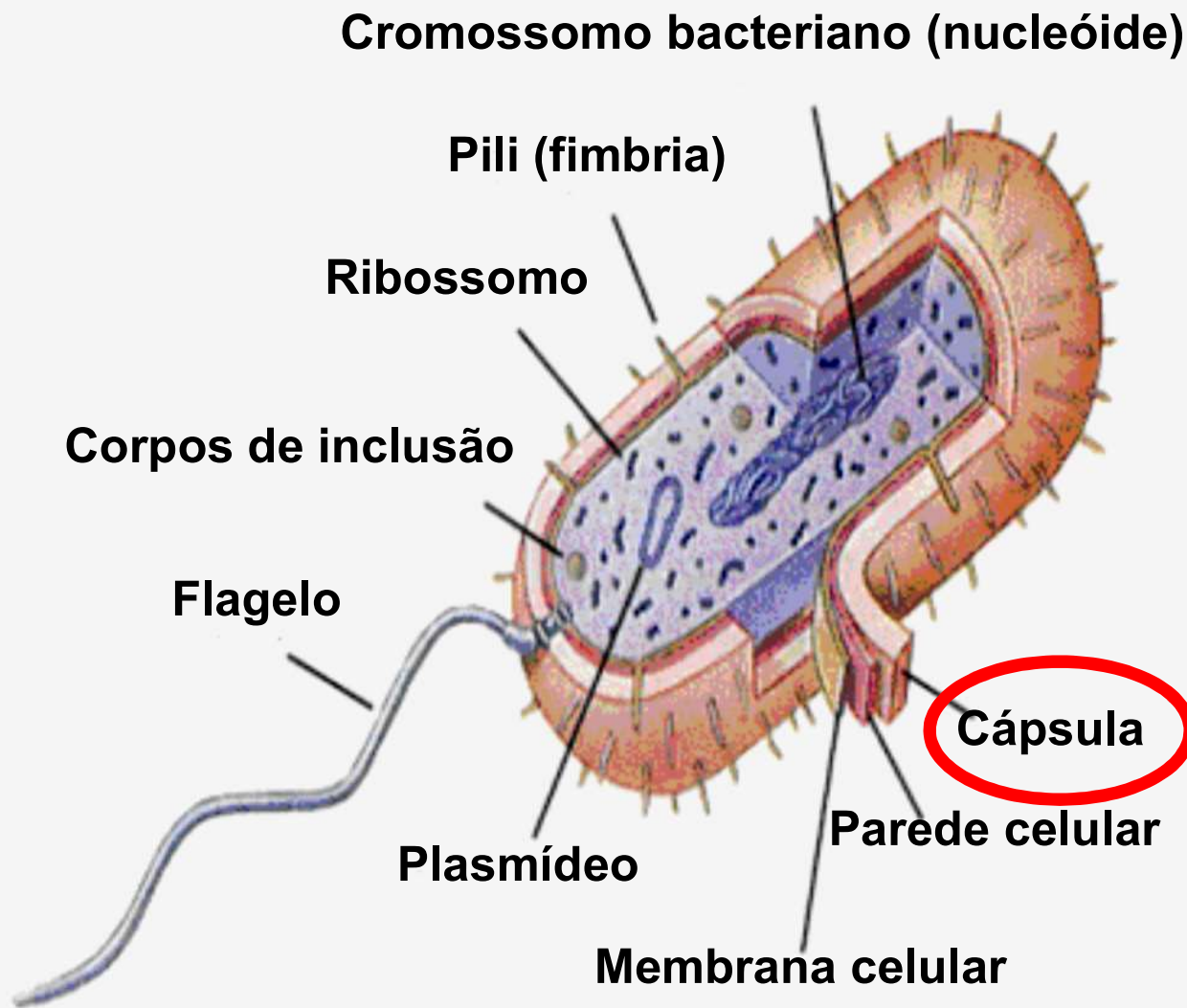


Escherichia coli (pili de adesão ou fimbria
Tipo 1, CFA1, CFA2)
Adesão à célula gastrointestinal



Escherichia coli (Pili F ou sexual)

Estrutura bacteriana



Estrutura bacteriana: cápsula

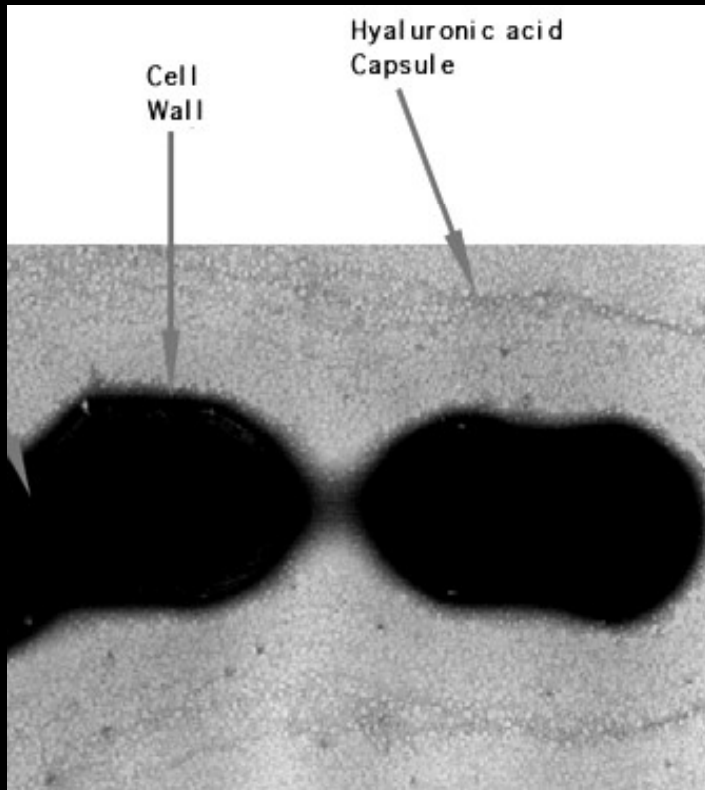
Camada de polímero mais externa produzida por algumas bactérias

Polissacarídeo de alto peso molecular com aspecto de gel.

Confere resistência à fagocitose

Uma outra estrutura similar à cápsula denomina-se *slime*, a qual origina o *biofilm*

Constitui antígeno capsular (*K*)



Estrutura bacteriana: cápsula



Confere resistência à fagocitose e à ação dos anticorpos

Confere resistência aos antibióticos

Confere resistência à dessecação

Favorece a adesão bacteriana às superfícies

Favorece a formação do biofilme

Outorga o fenótipo mucóide à bactéria (chiclete)

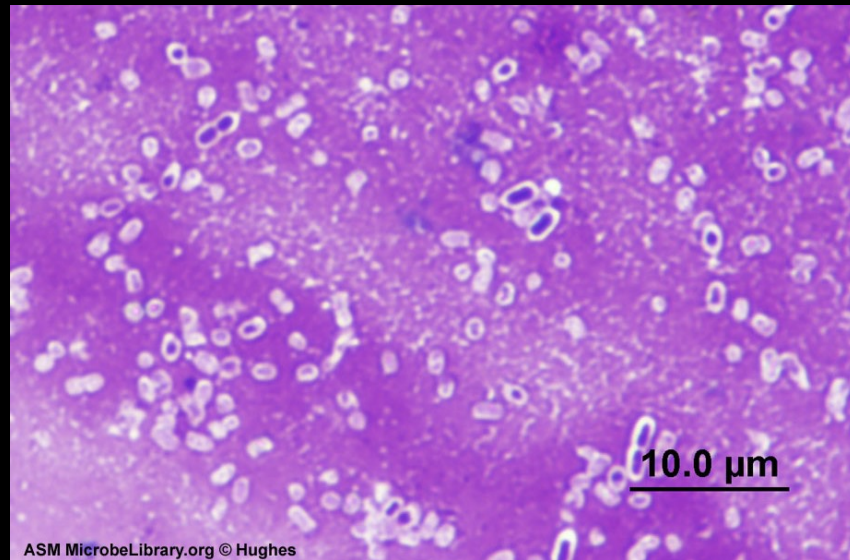
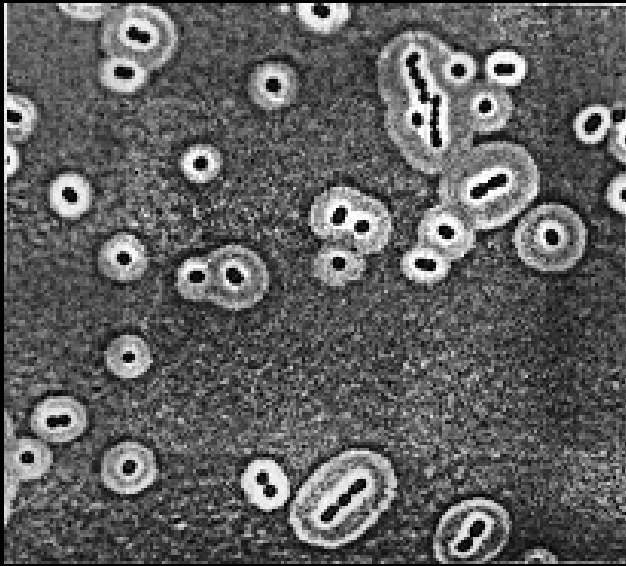
Estrutura bacteriana: cápsula



Estrutura bacteriana: cápsula



Estrutura bacteriana: cápsula



*Coloração da cápsula bacteriana com tinta da China (coloração negativa) e fucsina (*Streptococcus pneumoniae*)*

Estrutura bacteriana: cápsula

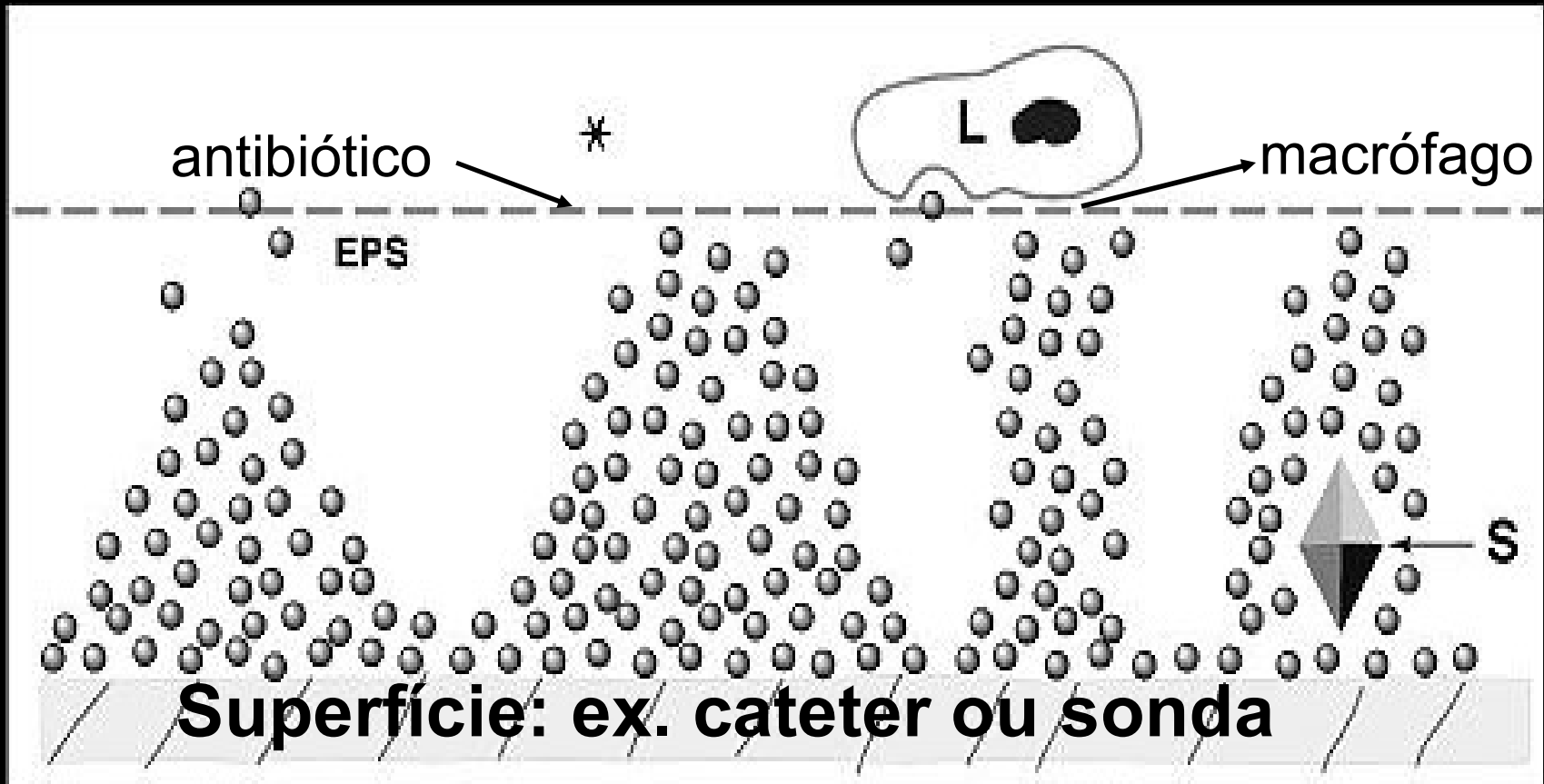


Streptococcus mutans sintetiza glucano a partir de sacarose formando placa bacteriana

Estrutura bacteriana: biofilme

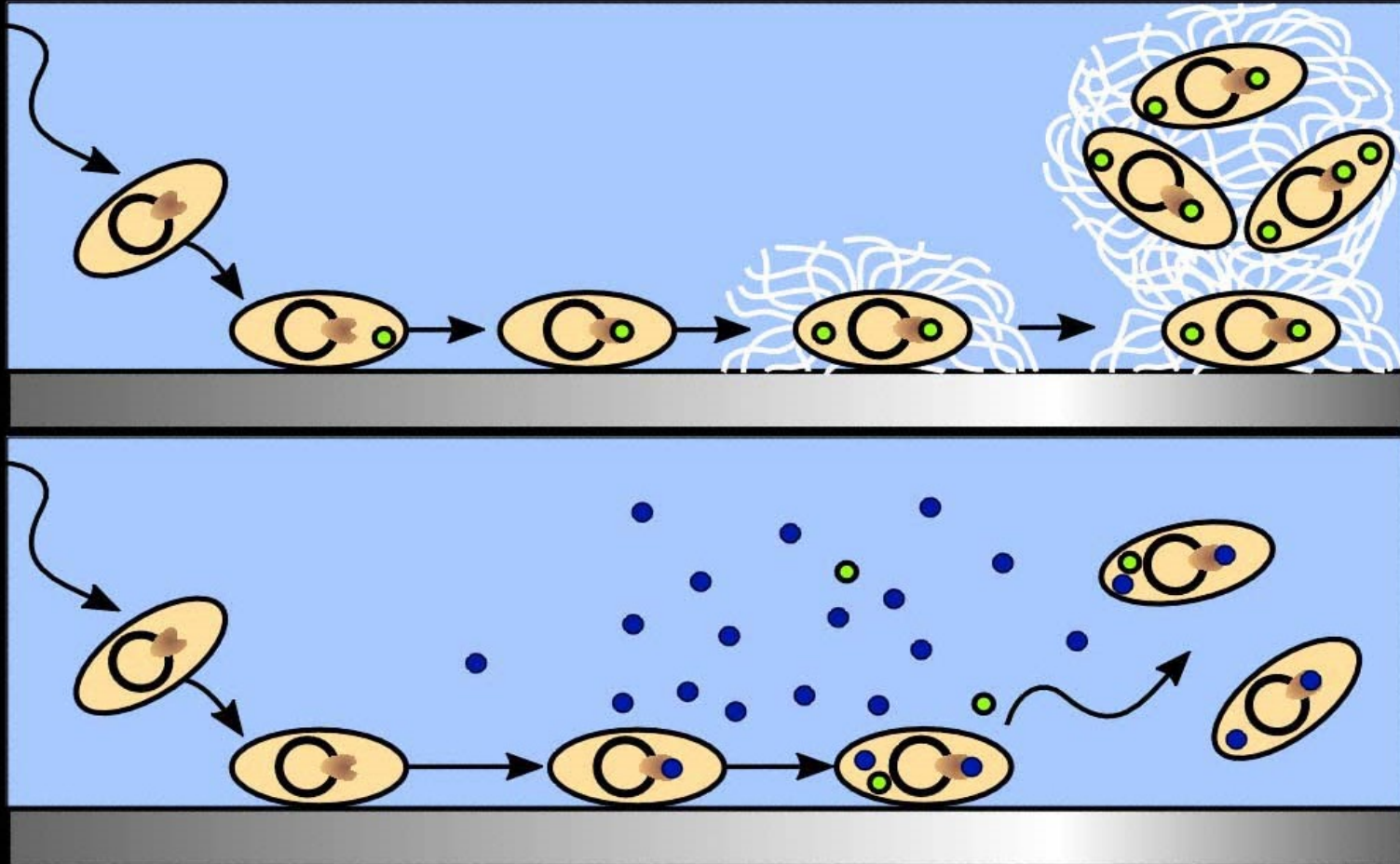


Estrutura bacteriana: biofilme



Algumas bactérias produzem uma matriz de slime

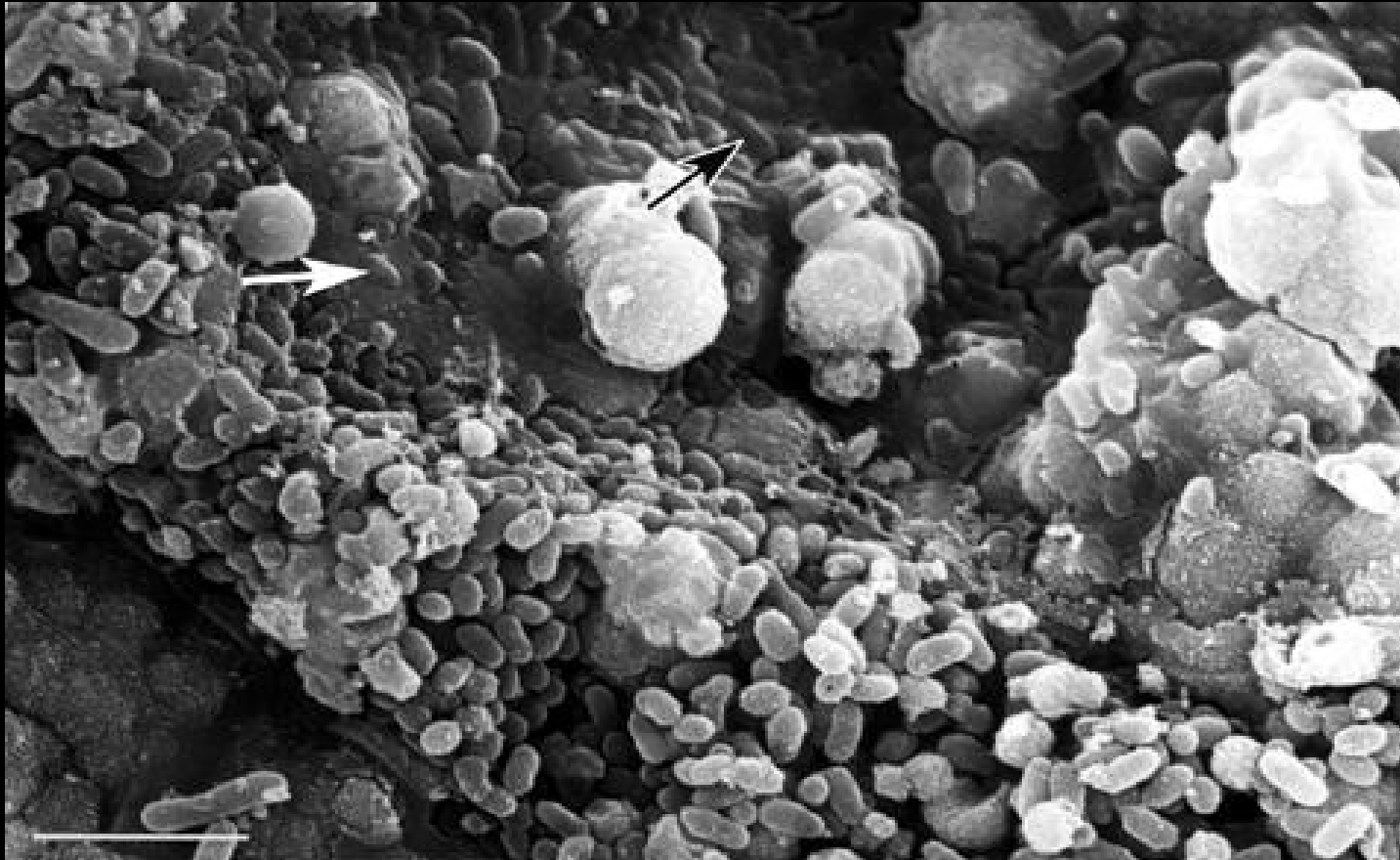
Estrutura bacteriana: biofilme



213597cs

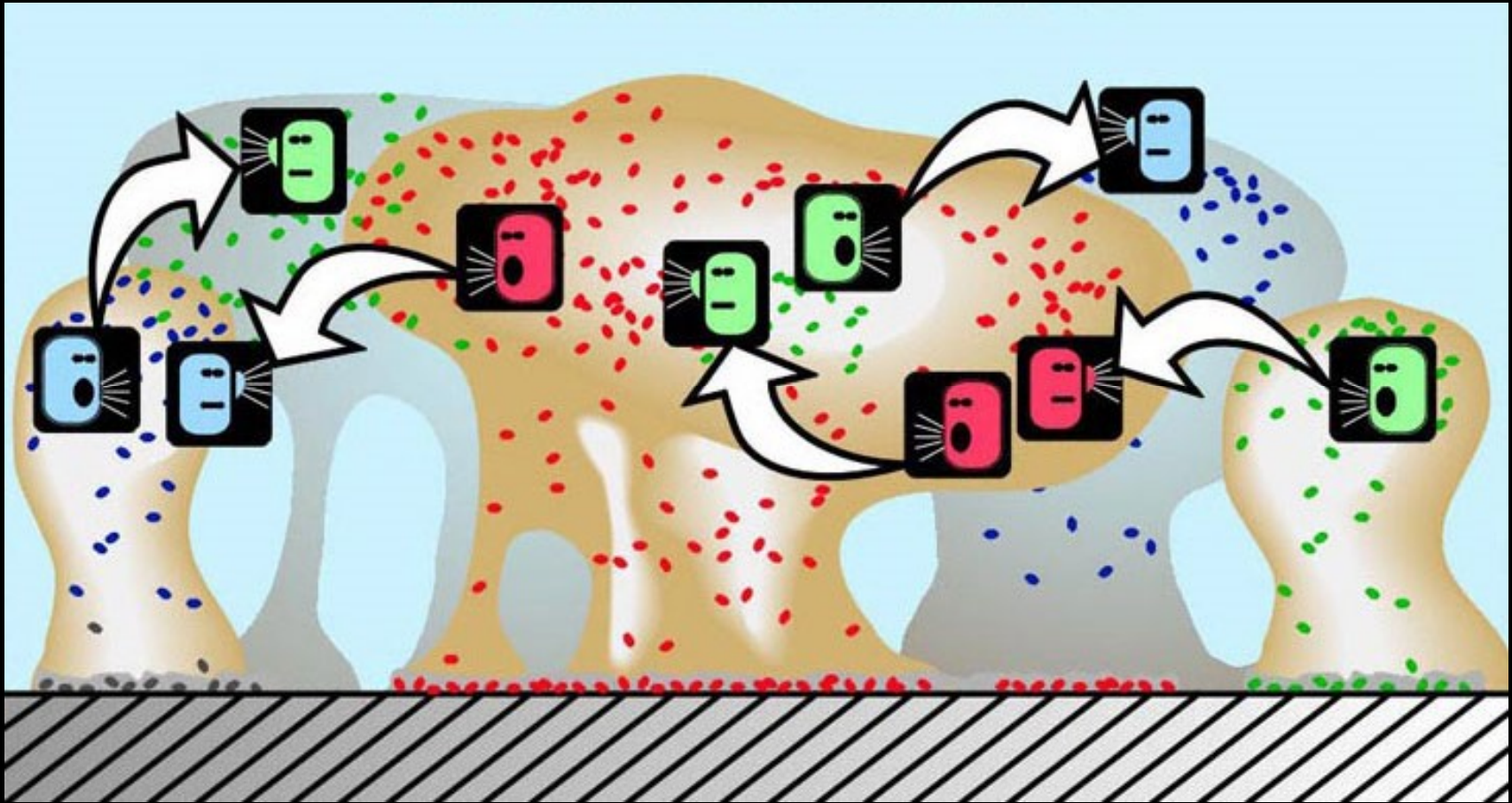
Formação de biofilm

Estrutura bacteriana: biofilme



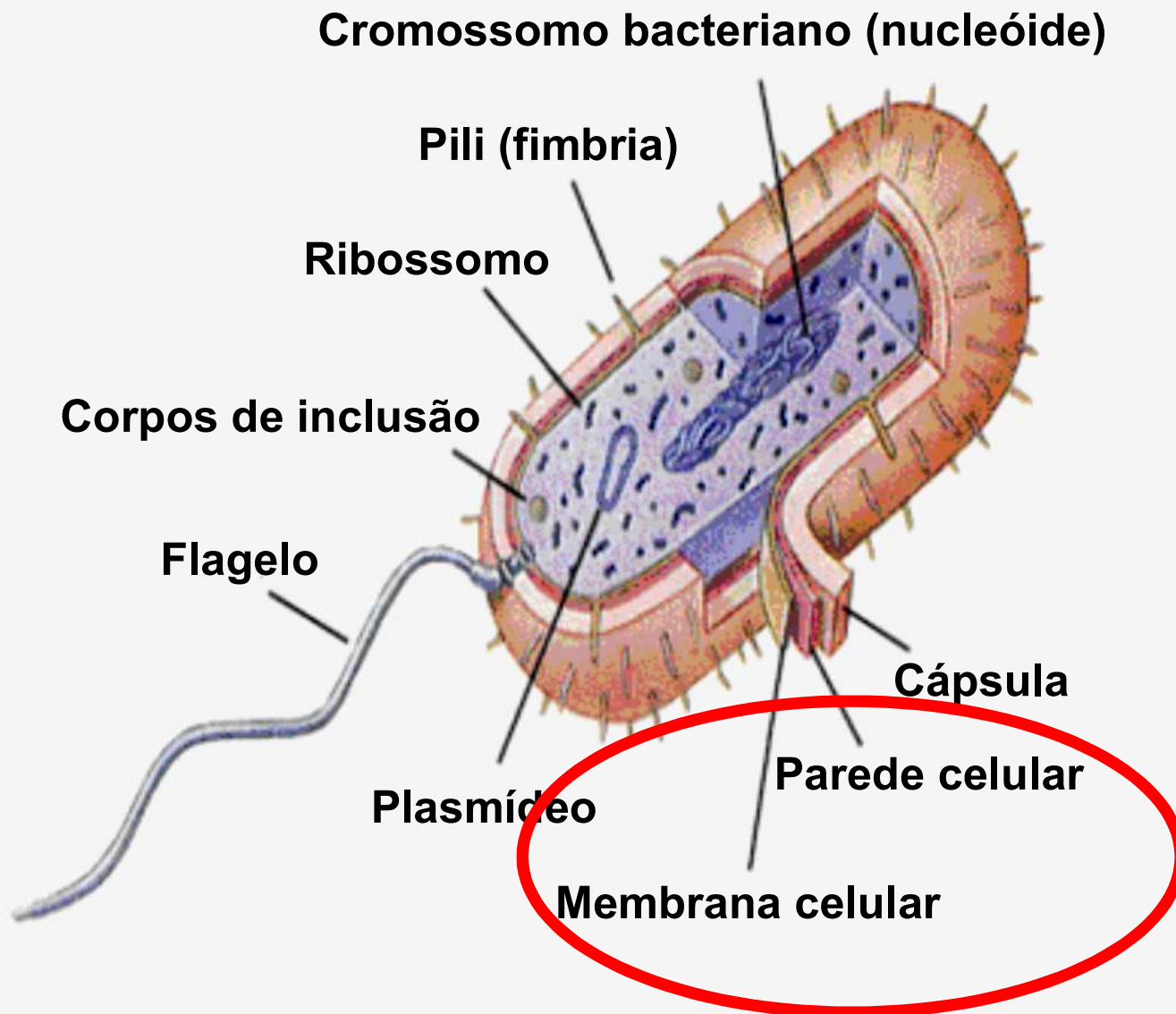
Microscopia eletrônica de biofilme (cateter)

Estrutura bacteriana: biofilme

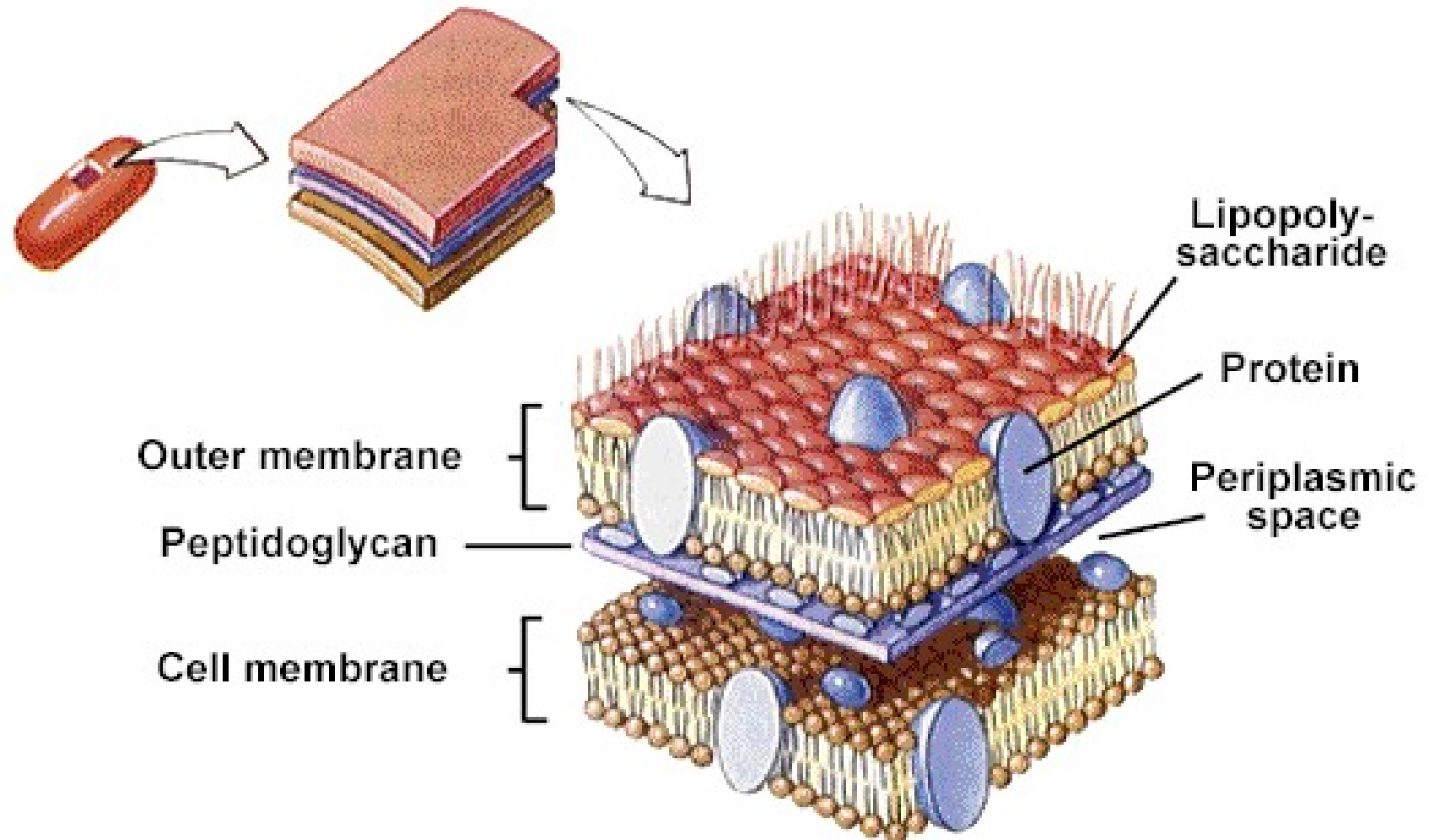


sinalização célula-célula

Estrutura bacteriana

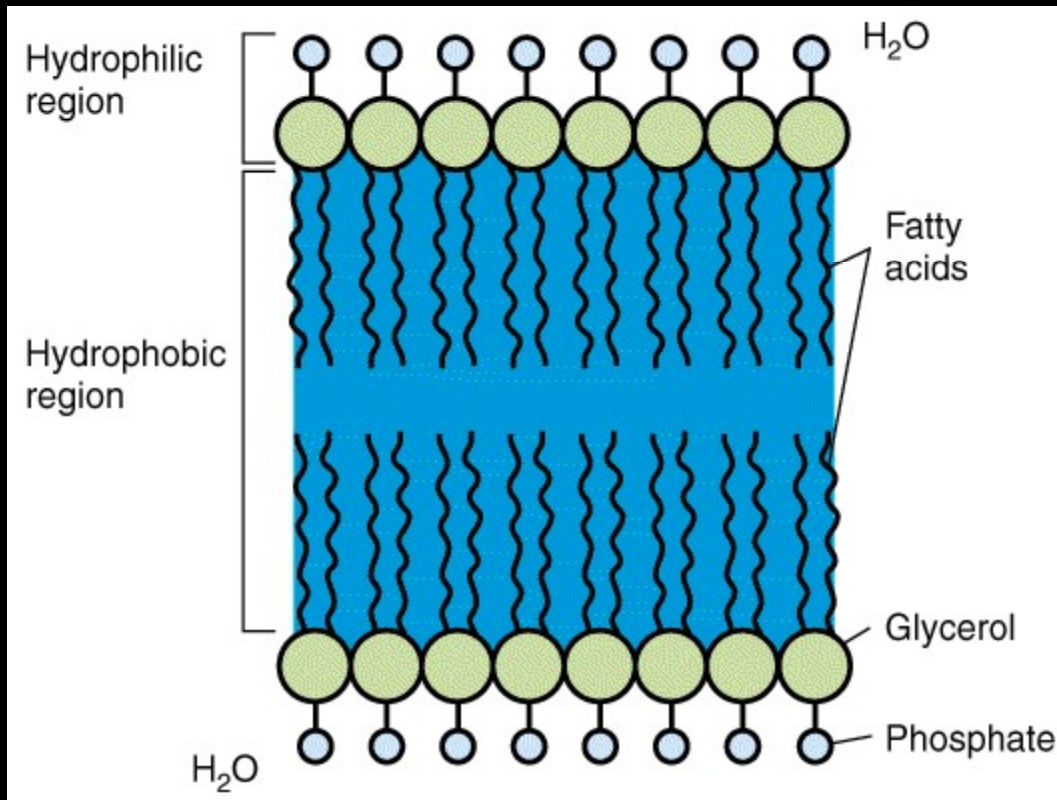


Estrutura bacteriana



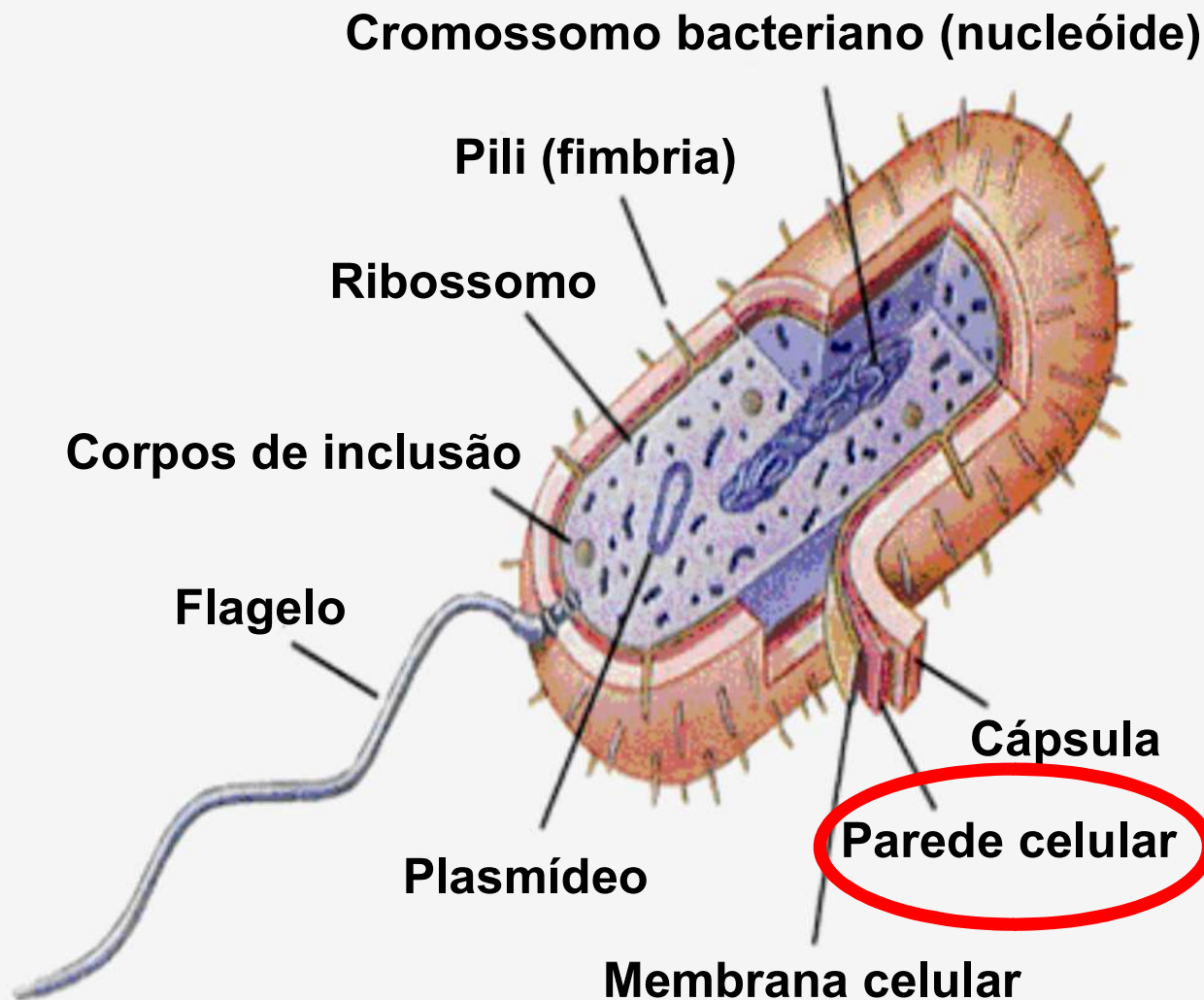
Estrutura bacteriana

MEMBRANA INTERNA

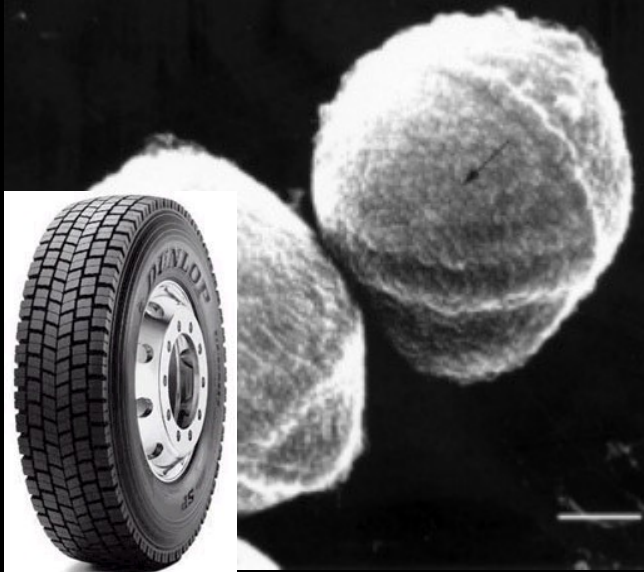


1. Transporte de solutos
2. Produção de energia por transporte de elétrons e fosforilação oxidativa

Estrutura bacteriana



Estrutura bacteriana: parede



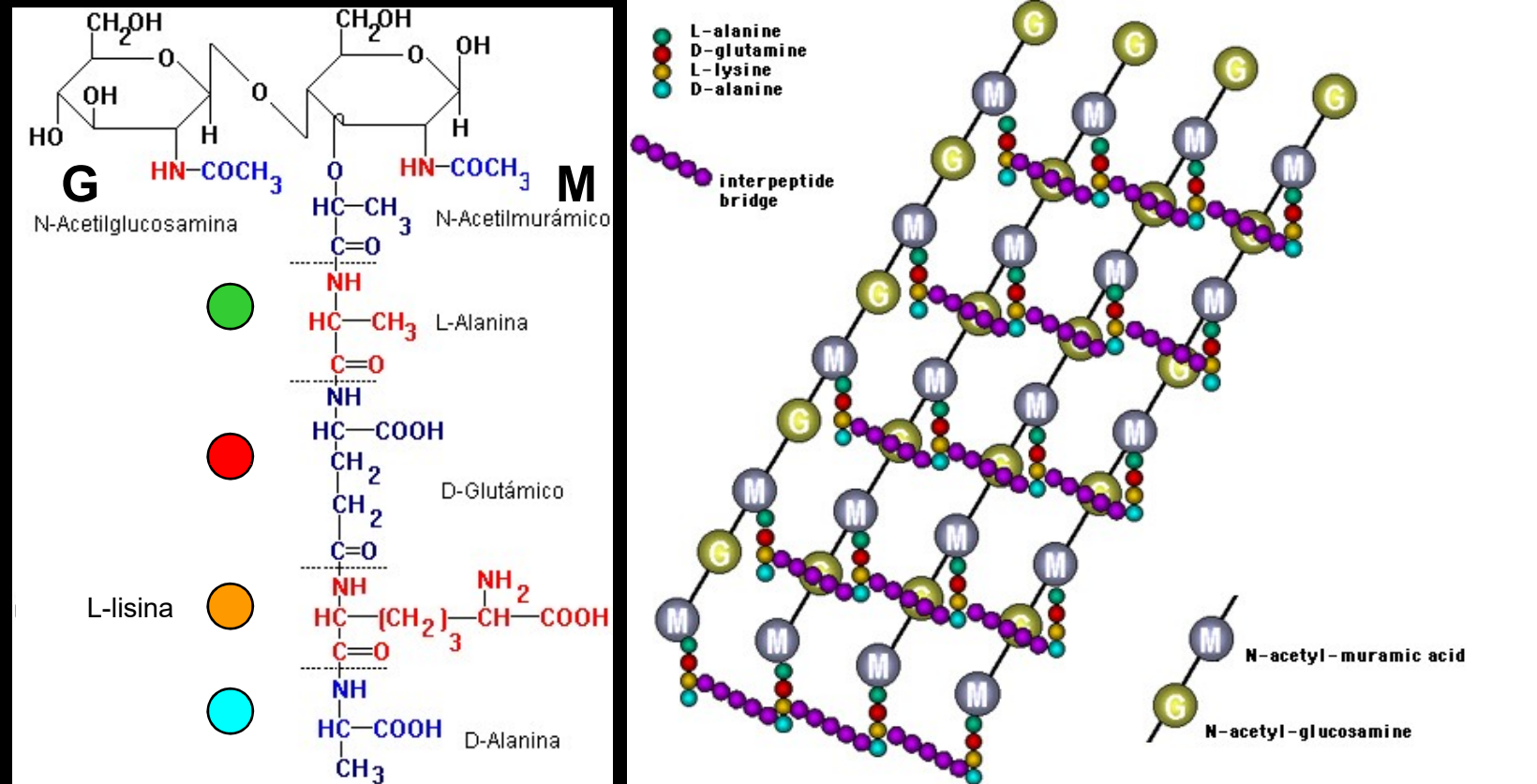
A pressão interna de Gram positivos pode atingir 20 atmosferas sem que a célula rompa, graças à rigidez e ao formato da parede celular. Por comparação, um pneu de caminhão tem uma pressão de 2 atmosferas.

Estrutura rígida que recobre a membrana citoplasmática e confere forma às bactérias.

O principal composto da parede celular é a **MUREÍNA**, cuja espessura é dependente do número de camadas deste composto.

MUREÍNA ou PEPTIDOGLICANO = polímero de açúcares (glucano) unidos por ligação cruzada de curtas cadeias de aminoácidos pequenos (peptídeo).

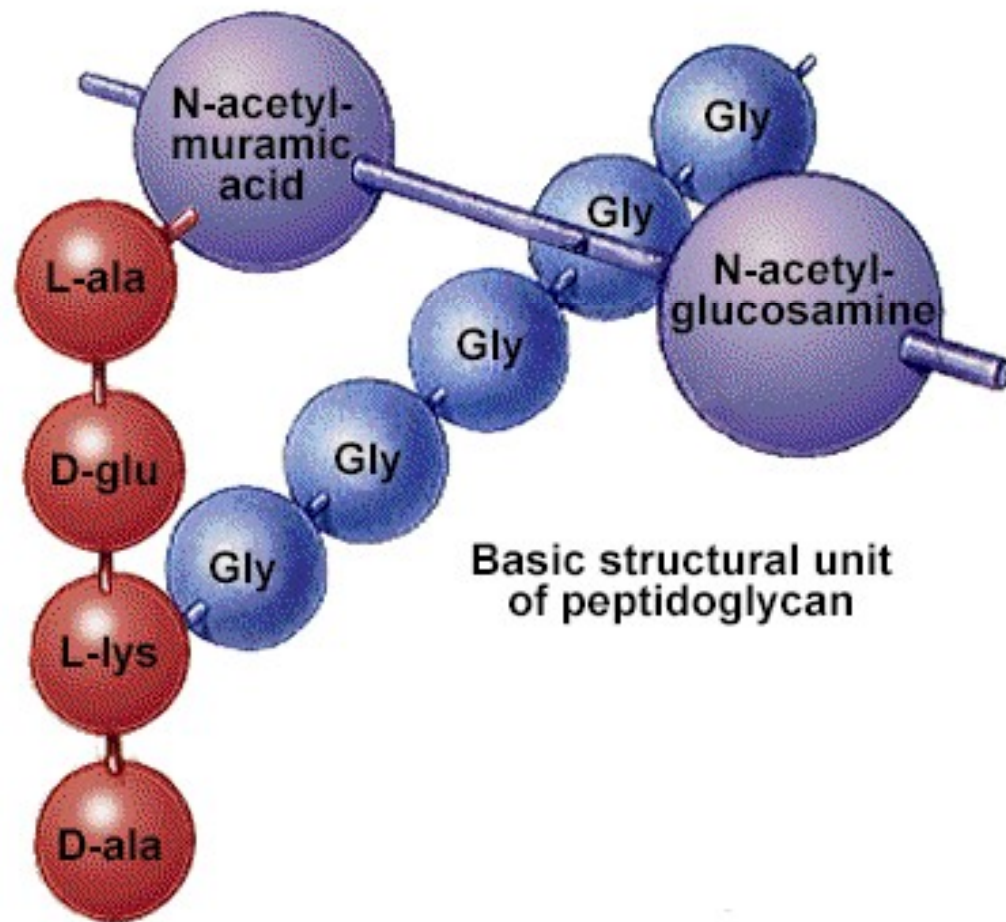
Estrutura bacteriana: parede



A Mureína (= Peptidoglicano) da parede celular é composta de uma série de subunidades dissacarídeas idênticas de β -1,4-N-acetilmurâmico-N-acetilglicosamina, e tetrapeptídeos de L-alanina-D-glutamina-L-lisina-D-alanina. A ligação cruzada de transpeptidação entre o resíduo de D-alanina terminal e a L-lisina é realizada por uma enzima transpeptidase (denominada PBP, *protein-binding penicillin*).

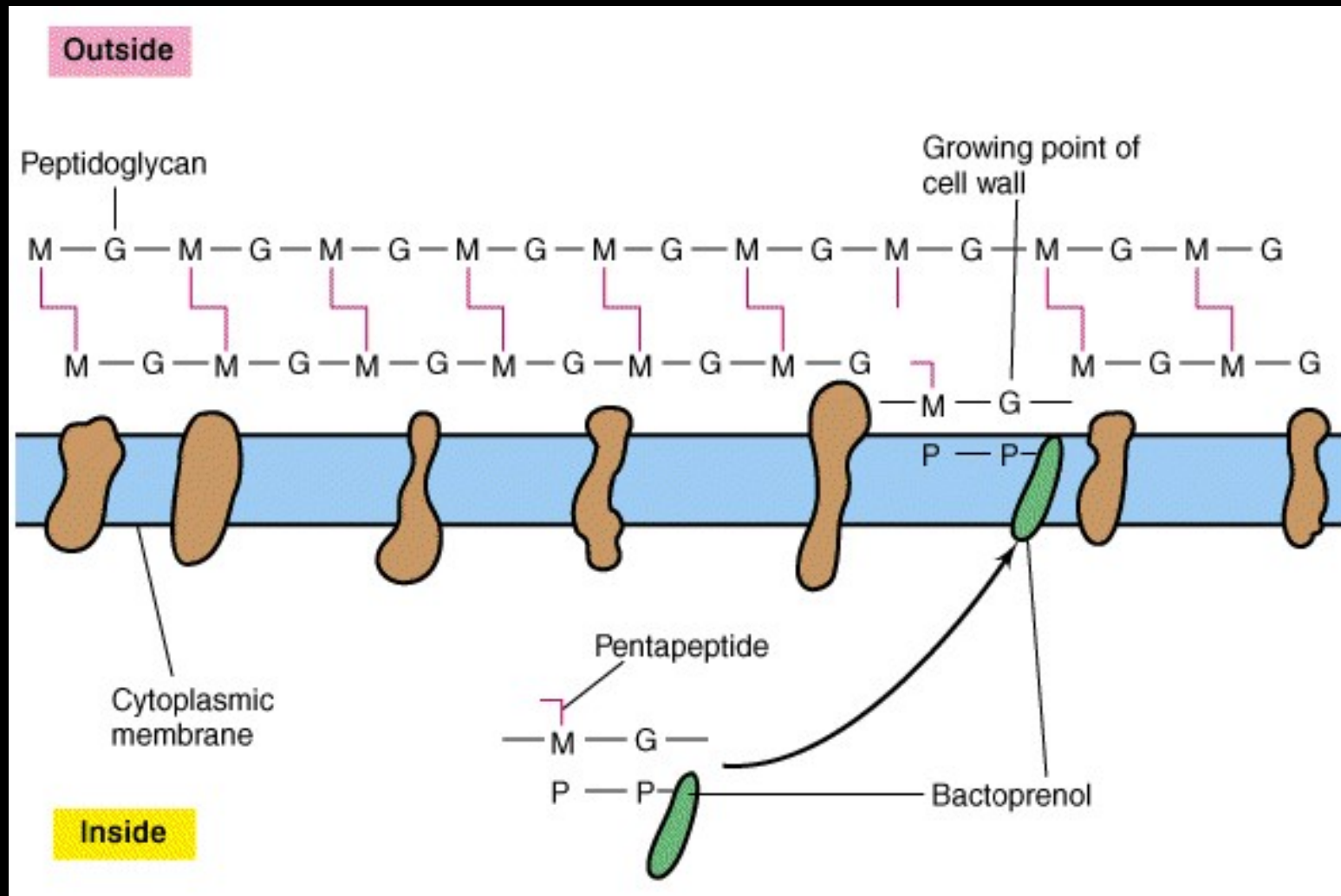
Estrutura bacteriana: parede

PEPTIDGLICANO ou MUREÍNA

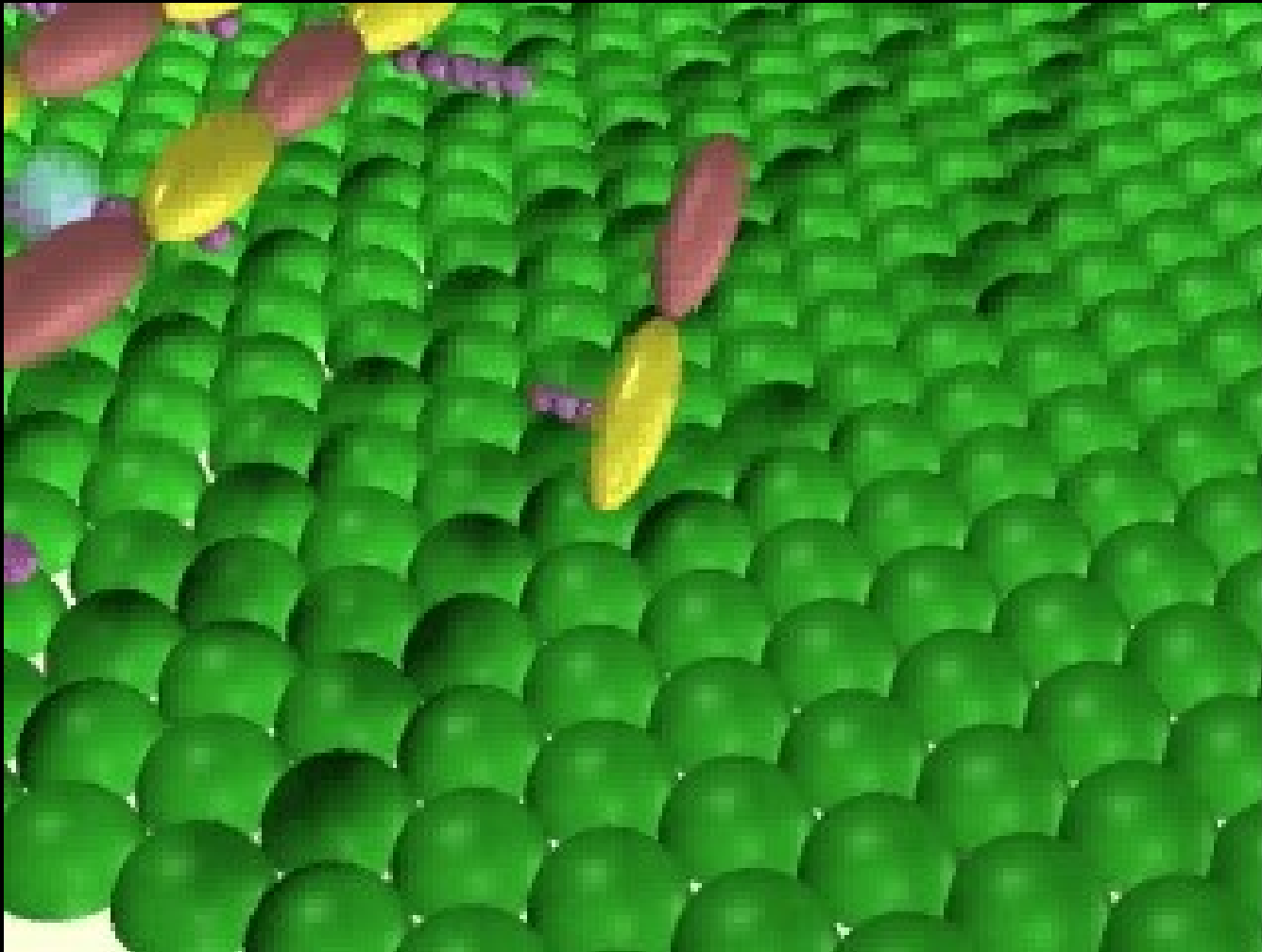


Estrutura bacteriana: parede

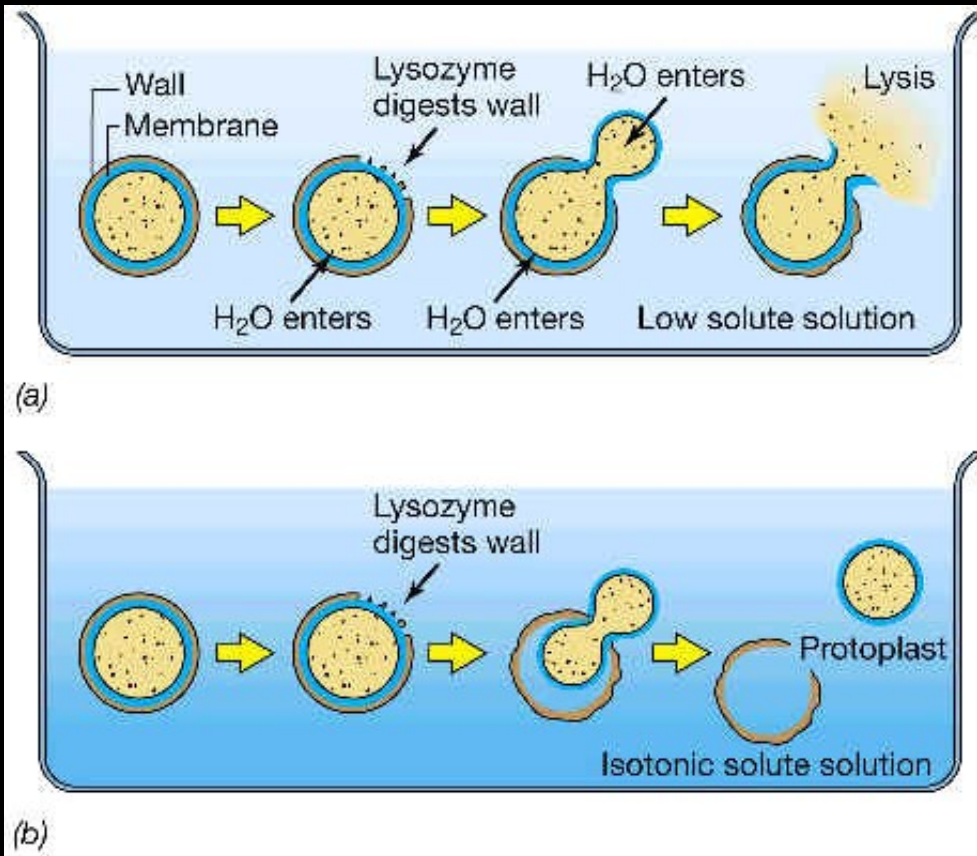
PEPTIDGLICANO ou MUREÍNA



Estrutura bacteriana: parede



Estrutura bacteriana: parede

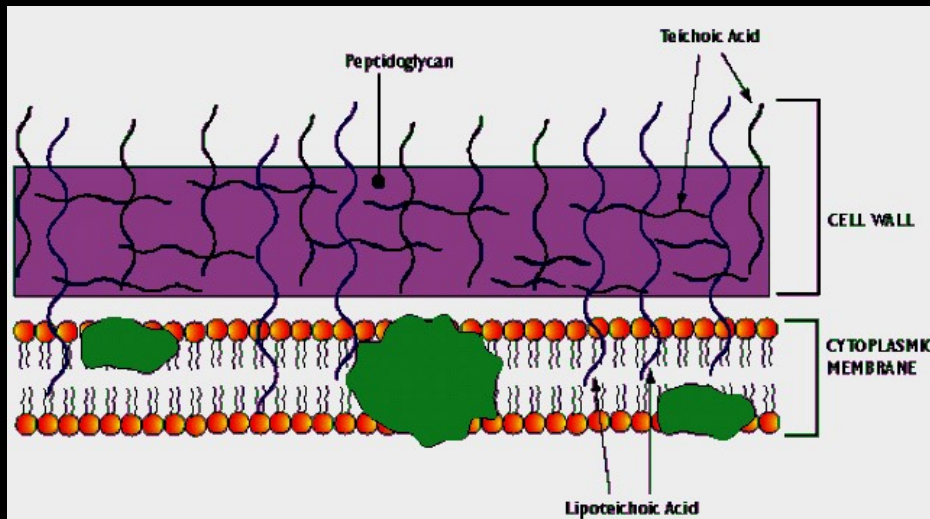


A Lisozima é uma enzima bacteriolítica presente em tecidos humanos e secreções, a qual pode digerir completamente o peptidoglicano, formando, na presença de um estabilizador osmótico (sacarose):

1. Protoplastos em Gram positivo
2. Esferoplastos em Gram negativos

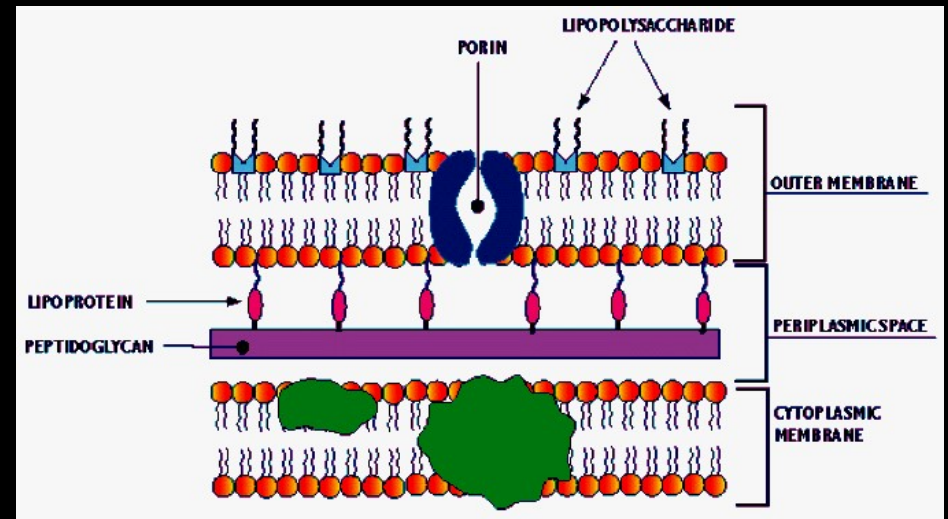
Estrutura bacteriana: parede

Parede Gram positivo



Peptidoglicano = ~20 – 80 nm de espessura = 20 camadas de PG

Parede Gram negativo



Peptidoglicano = Parede ~ 2 – 10 nm de espessura = 1 camada de PG

Membrana externa adicional

Espaço Periplásmico

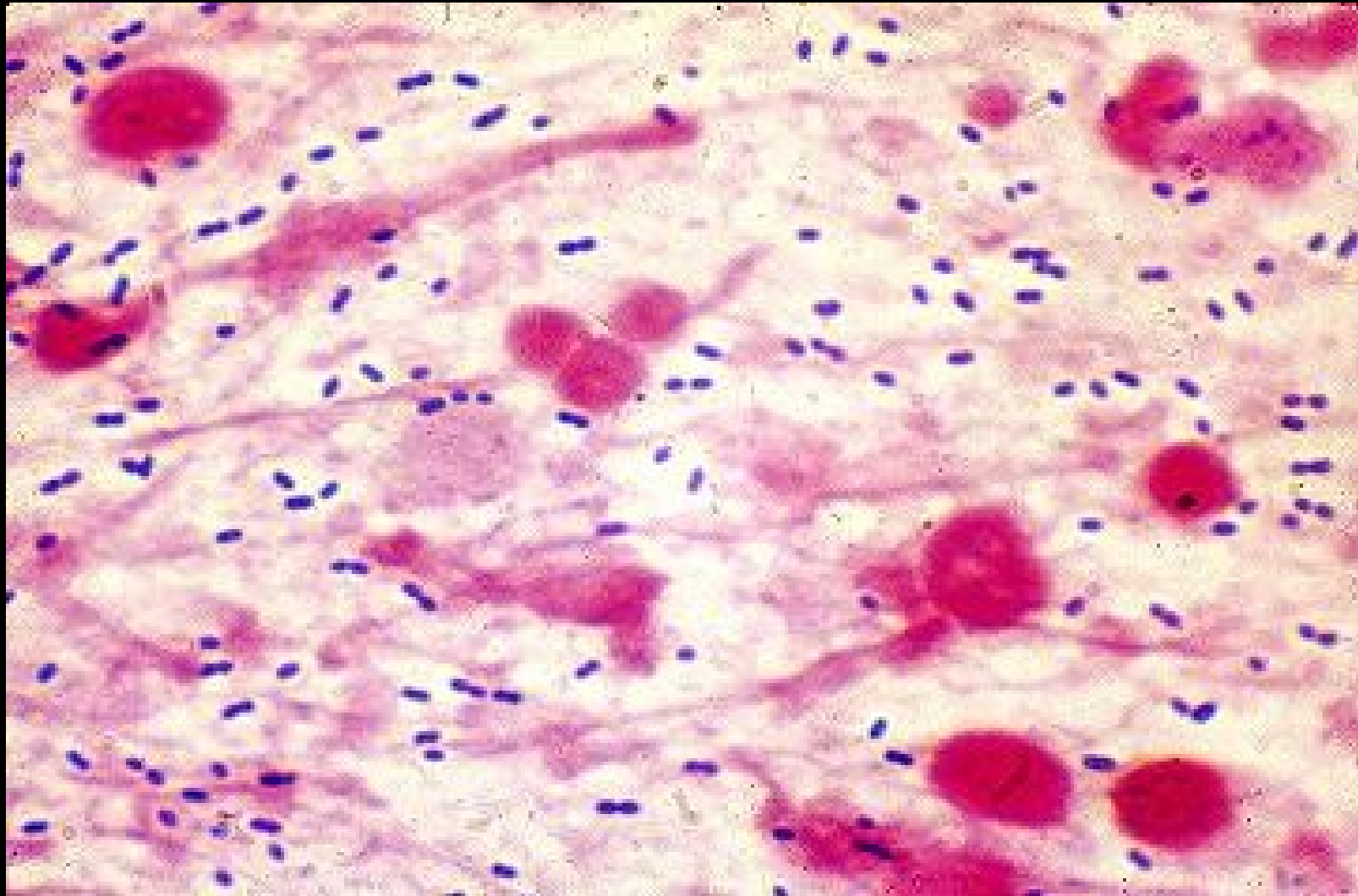
Hans Christian Joachim Gram



1853-1938

- 1884 descobriu um método de coloração de bactérias, utilizando uma solução de violeta de genciana. Após tratamento com lugol (iodo em iodeto de potássio aquoso) e etanol, observou que algumas bactérias retinham o corante (pneumococo), enquanto outras não = Gram positivo/Gram negativo

Hans Christian Joachim Gram



Coloração de Gram: Princípio

As bactérias podem corar-se **Gram positivas** ou **Gram negativas** de acordo com as diferenças na composição das suas paredes celulares. **Bactérias Gram positivas** apresentam em sua estrutura uma camada espessa de peptidoglicano e grande quantidade de ácido teicóico. As paredes celulares das **bactérias Gram negativas** possuem uma camada fina de peptidoglicano ligada a uma membrana externa composta por uma bicamada fosfolipídica contendo lipopolisacarídeos e proteínas.

Coloração de Gram: Princípio



Colocar uma gota de água ou solução fisiológica numa lâmina de vidro limpa e seca

Coloração de Gram: Princípio



Estirilizar a alça

Coloração de Gram: Princípio



Pegar uma colônia bacteriana com a alça

Coloração de Gram: Princípio



Estender a colônia na gota de água ou solução fisiológica sobre a lâmina

Coloração de Gram: Princípio



Coloração de Gram: Princípio



Fixar a amostra por calor sobre a chama

Coloração de Gram: Princípio



**Se possível identifique a posição da amostra
na parte posterior da lâmina**

Coloração de Gram: Princípio



Cristal Violeta 2 minutos

Cobrir a amostra fixada com corantes

Coloração de Gram: Princípio



Lavar com água

Coloração de Gram: Princípio



Adicionar fixador

Coloração de Gram: Princípio



Lavar com água

Coloração de Gram: Princípio



Descolorar com álcool

Coloração de Gram: Princípio



Corar com Safranina ou fucsina

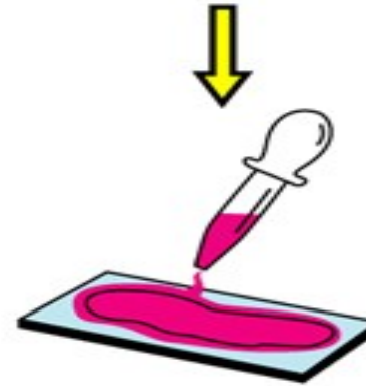
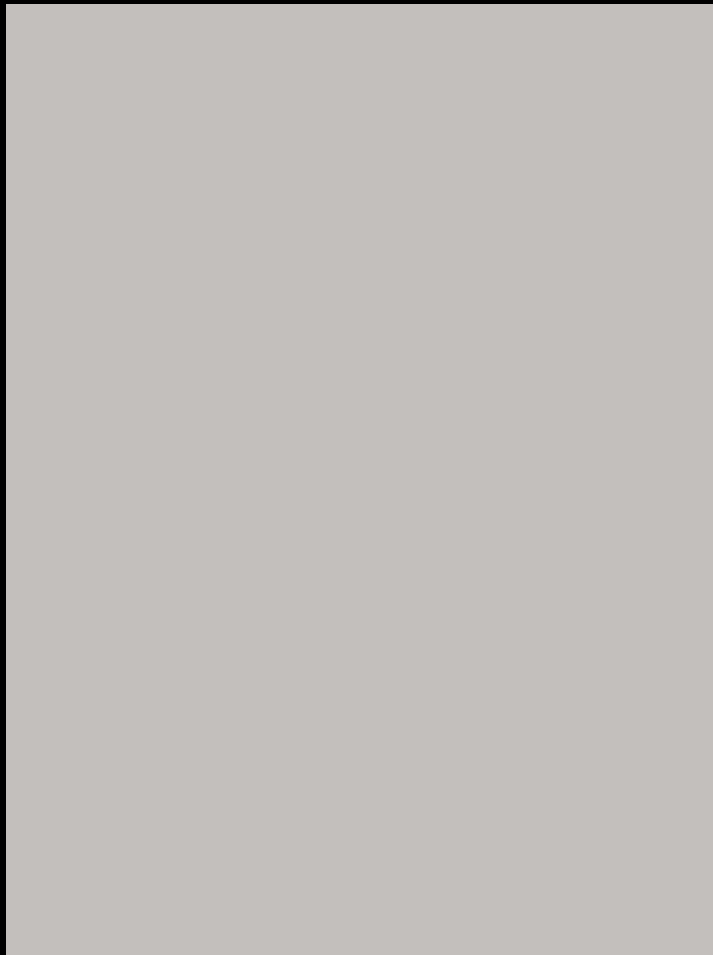
Coloração de Gram: Princípio



Lavar com água e secar

Secar com papel filtro

Coloração de Gram: Princípio



Cobrir a lâmina com o corante, lavar e secar



Colocar uma gota de óleo sobre a lâmina; examinar com a objetiva de 100x.

Coloração de Gram: Princípio

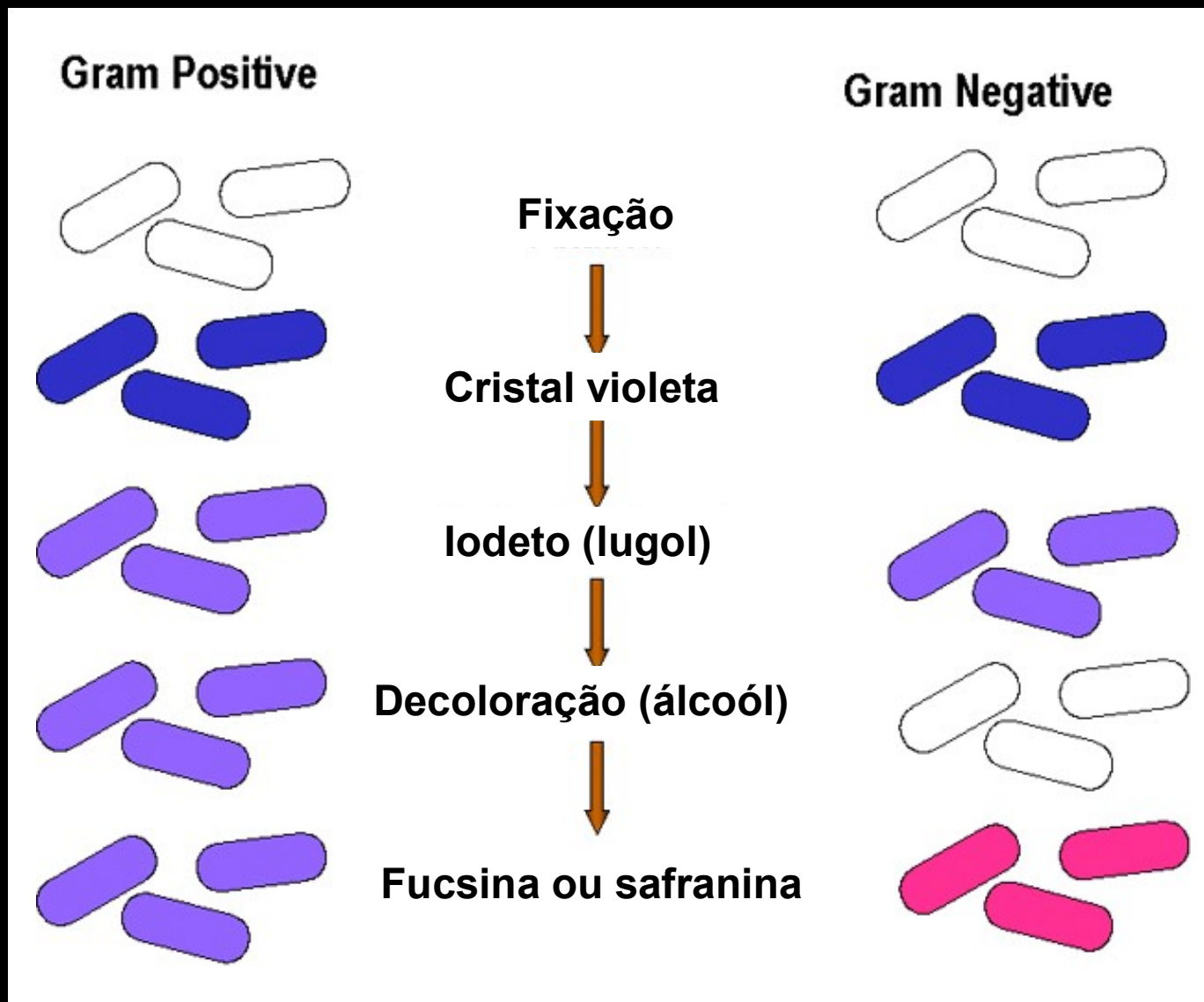


**observar ao microscópio com imersão (100x)
num campo que permita ver separação**

Coloração de Gram: Princípio

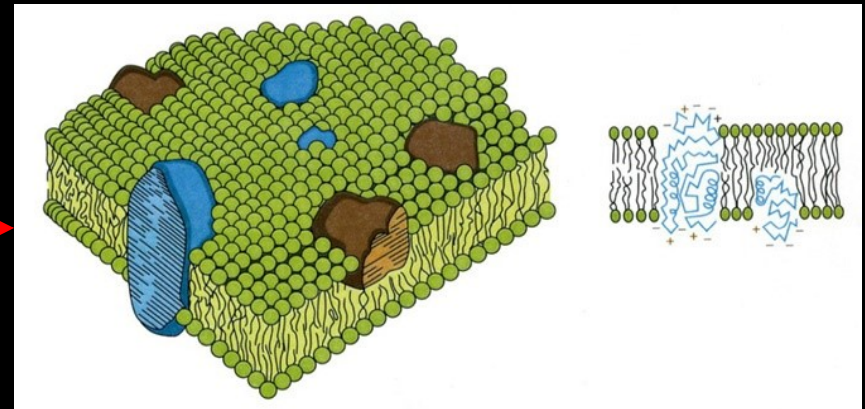
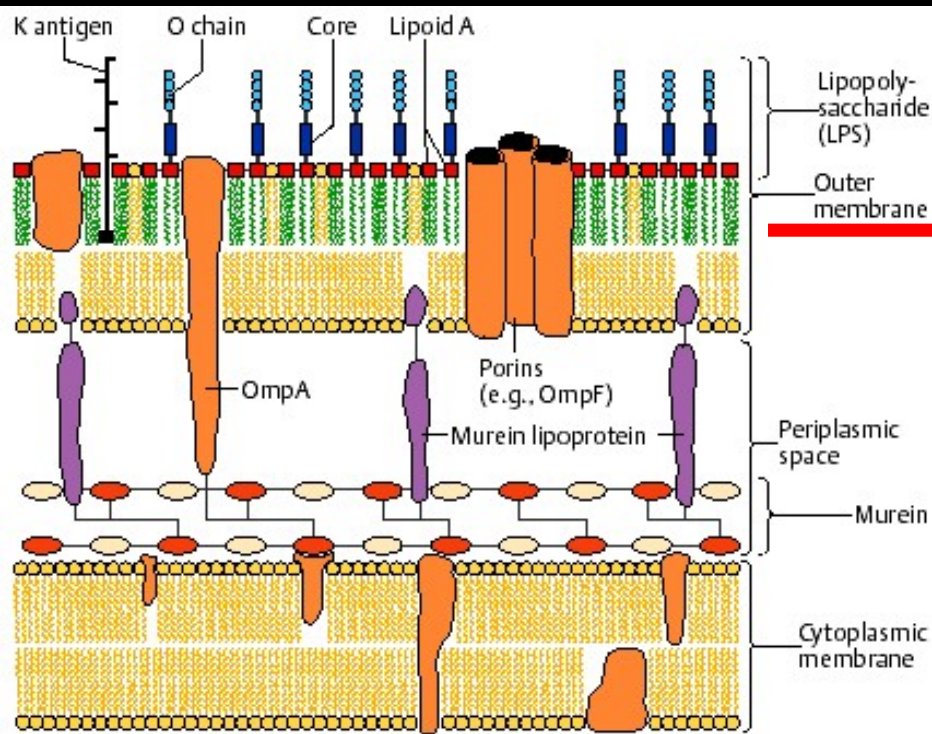
As bactérias **Gram positivas** não sofrem descoloração pelo álcool, restando o corante inicial e tingindo-se de violeta escuro. Em bactérias **Gram negativas** a membrana externa sofre a ação do descorante (álcool) permitindo que o complexo cristal violeta-iodo seja substituído pelo contra-corante (fucsina ou safranina).

Coloração de Gram



Estrutura bacteriana: parede

Gram Negativo

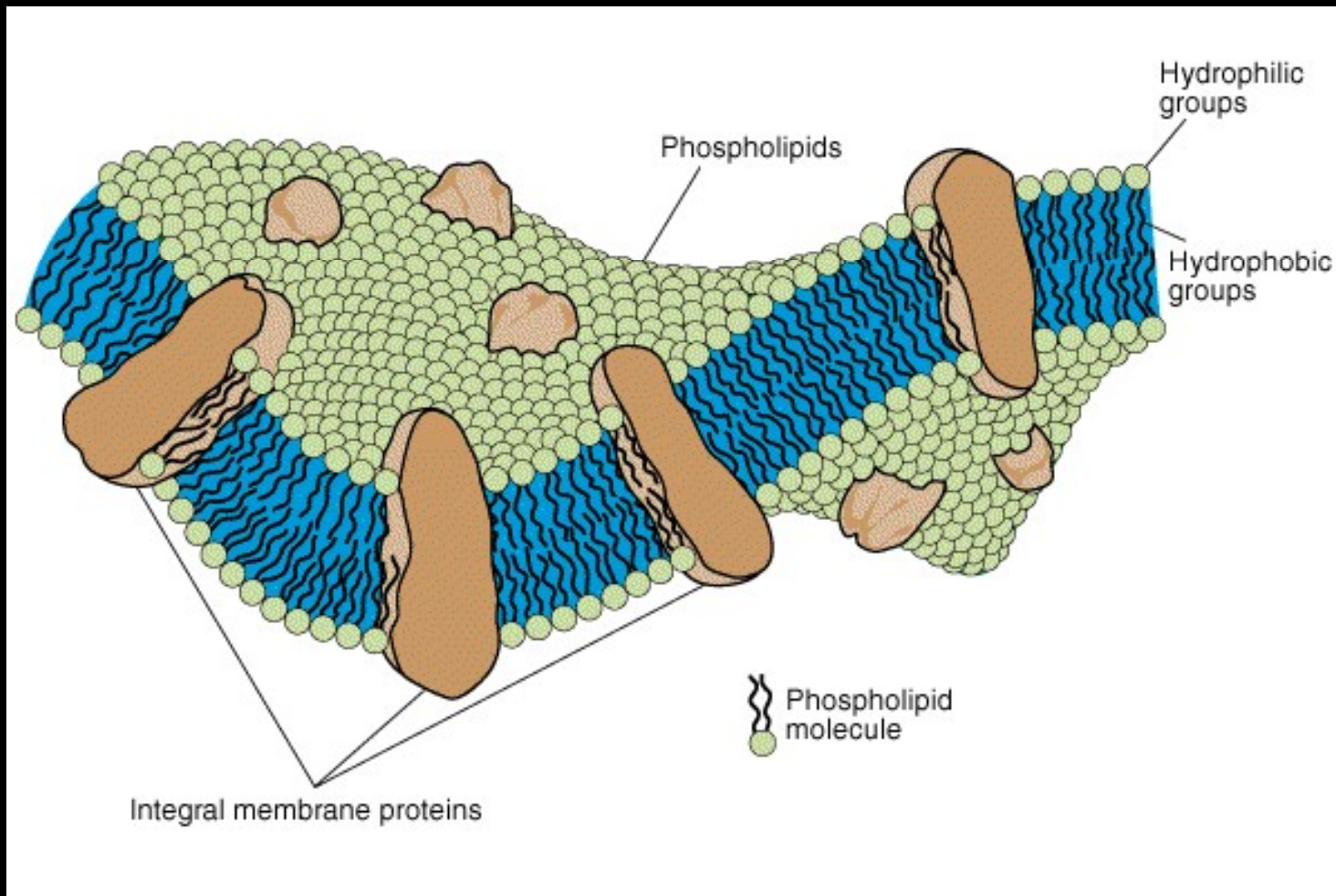


Membrana externa: bicamada fosfolipídica
Carregada negativamente

Estrutura bacteriana: parede

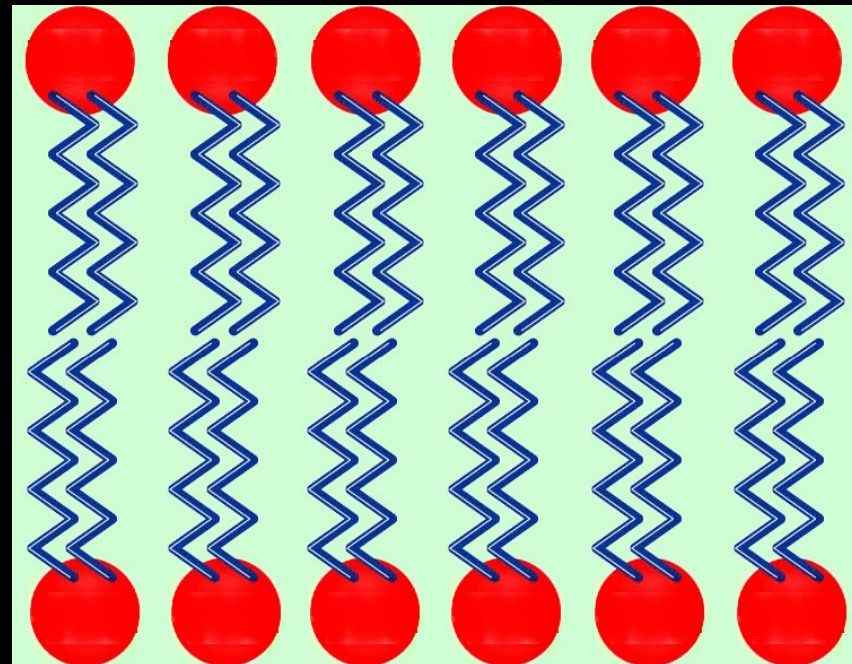
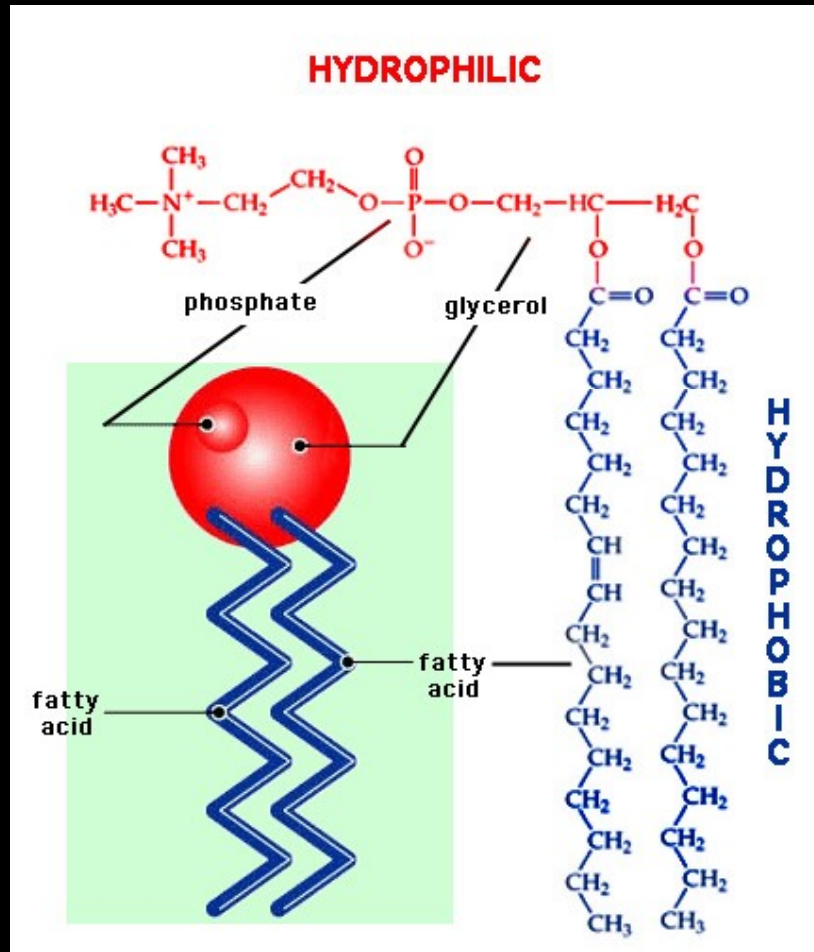
Gram Negativo

Membrana Externa



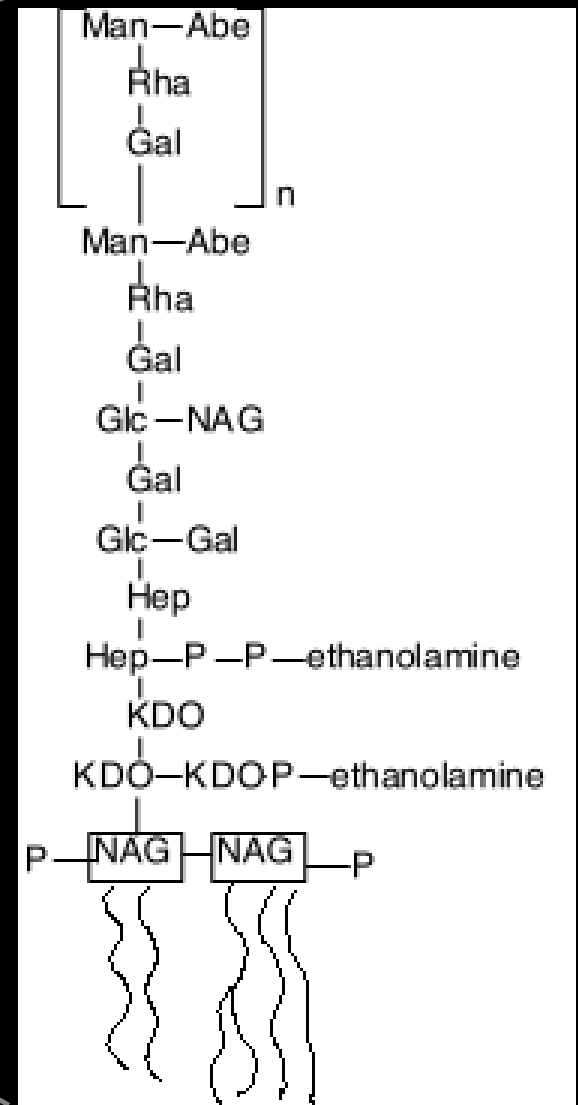
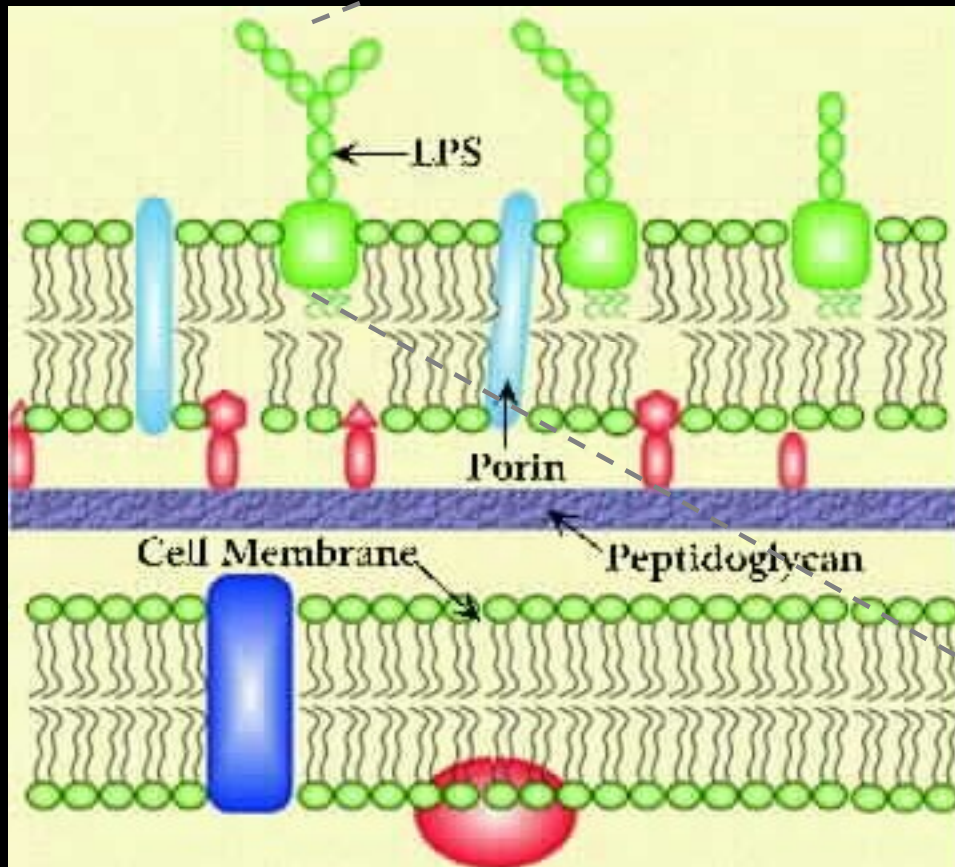
Estrutura bacteriana: parede

Gram Negativo

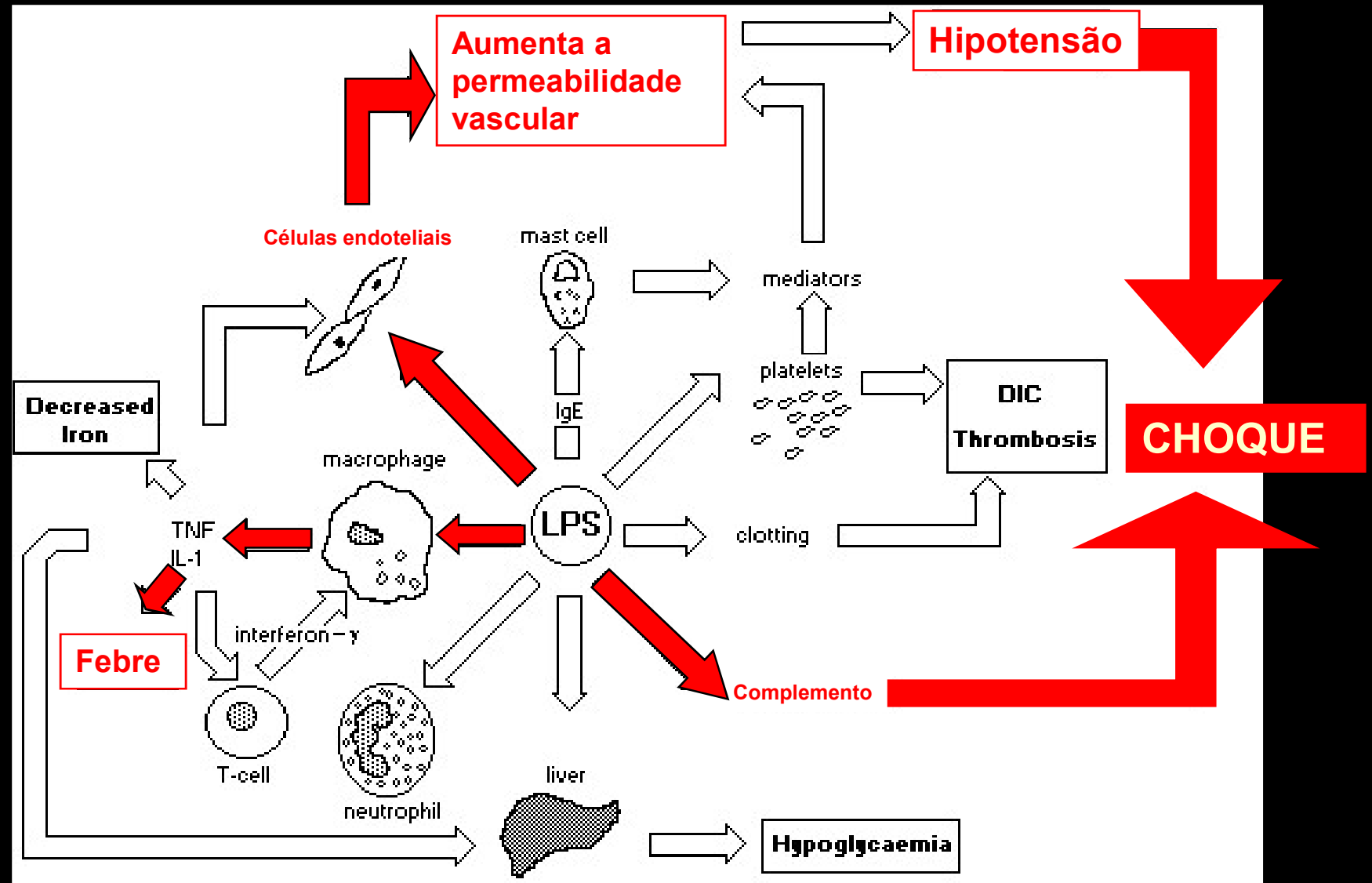


Membrana externa: bicamada fosfolipídica

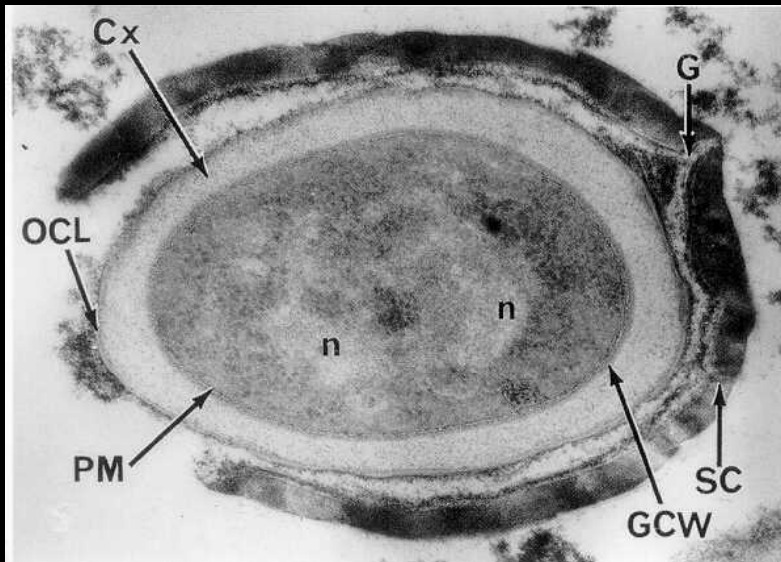
Antígeno polissacarídeos “O” específico



ENDOTOXINA- LPS



Estrutura bacteriana: esporos



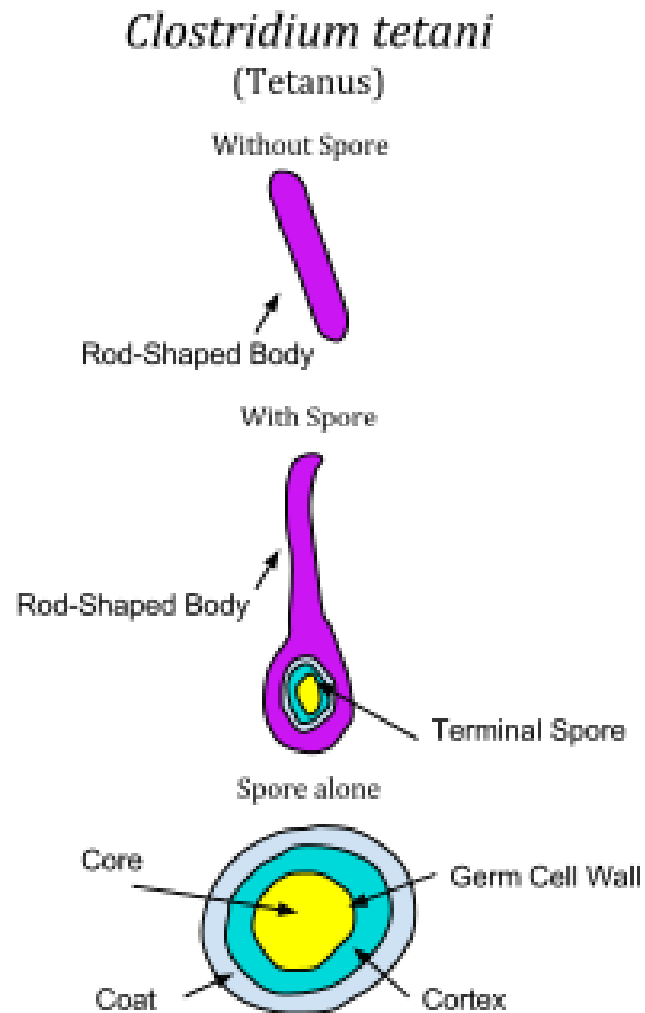
Mecanismo de sobrevivência

Esporos (endoesporos) são formas latentes de bactérias (*Bacillus* e *Clostridium*), altamente resistentes aos agentes físicos e químicos de esterilização.

São formados intracelularmente frente a condições nutricionais adversas, sendo liberados livres.

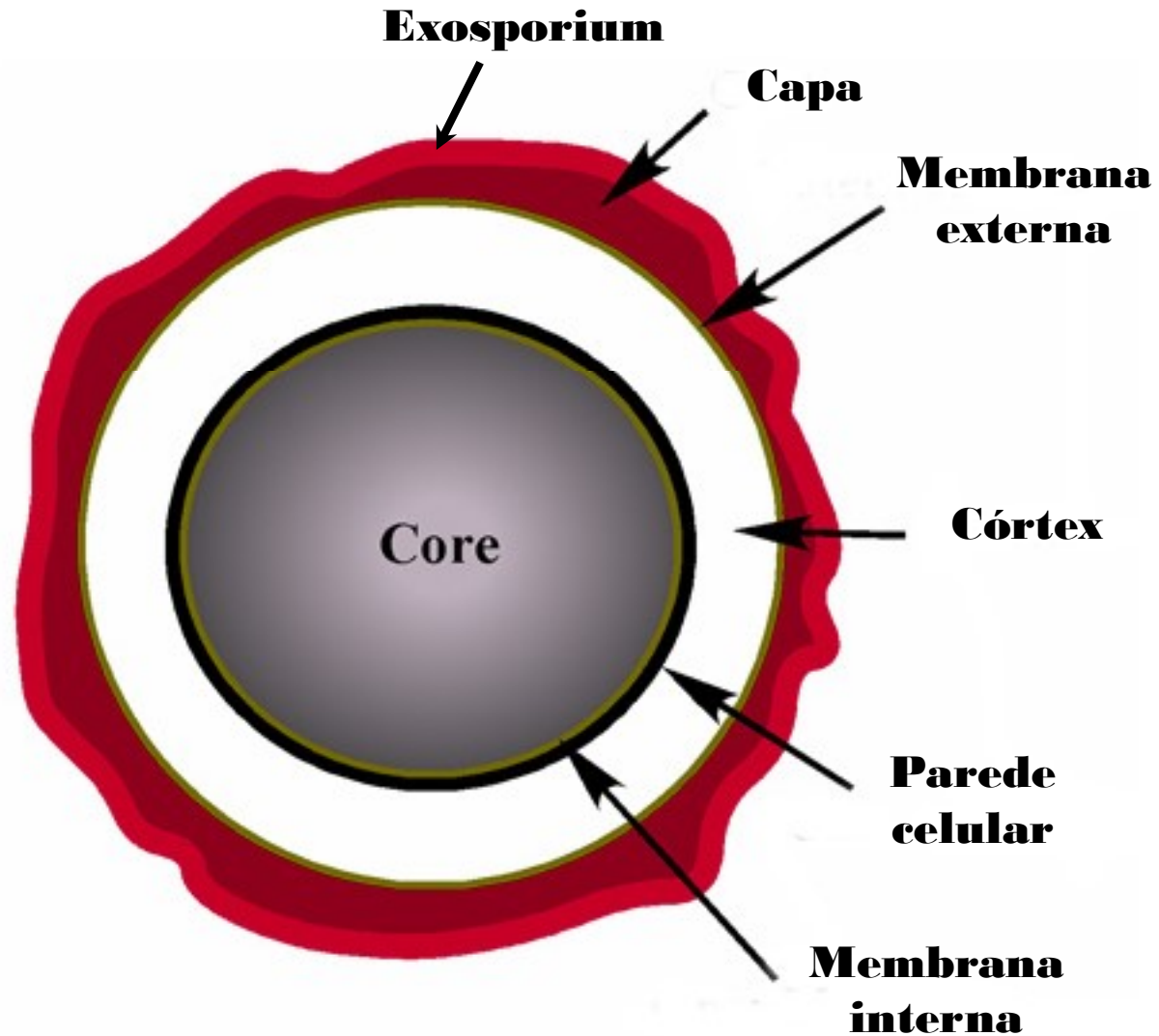
Quando as condições do meio são apropriadas o esporo germina para uma forma vegetativa da bactéria com reprodução.

Estrutura bacteriana: esporos



Paciente apresentando postura conhecida como "opistótono", decorrente da contratura muscular generalizada causada pela toxina tetânica (Fonte: Biblioteca Pública de Imagem de Saúde, Filadélfia, EUA).

Esquema de um esporo



Estrutura bacteriana: esporos

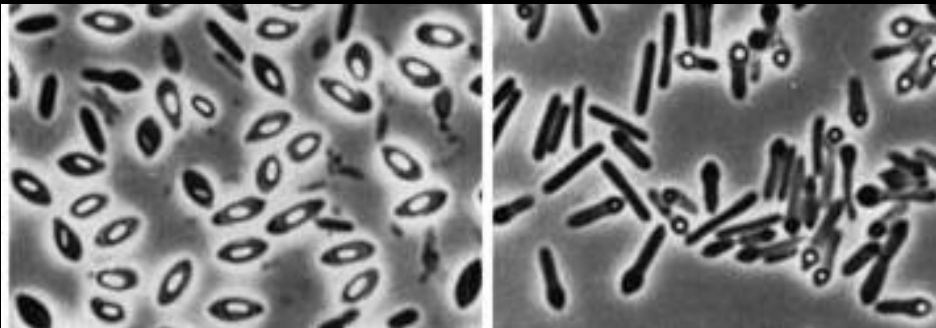


Formação do endoesporo (esporulação) em *Bacillus* e *Clostridium*:

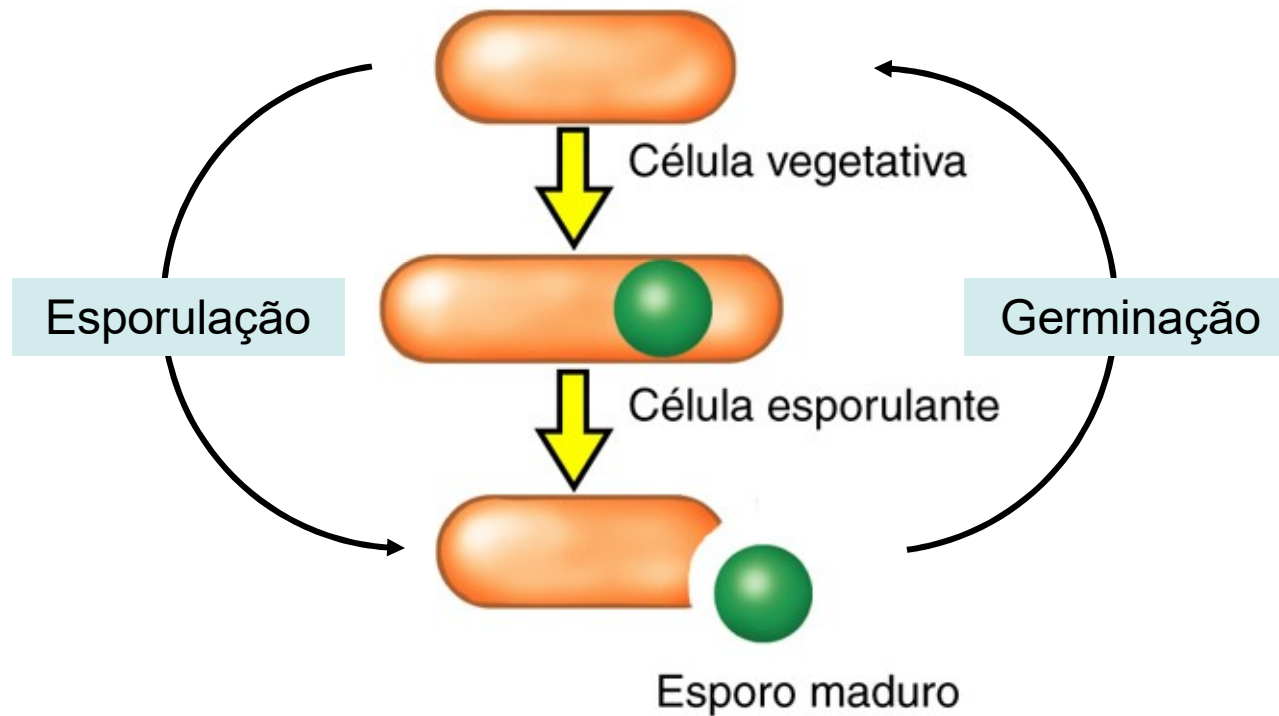
13 a, d) Esporo central (célula vegetativa)

13 b, c, e) Esporo terminal

14) Esporo livre



Estrutura bacteriana: esporos



Estrutura bacteriana: esporos



Coloração de endoesporos
Fixar amostra por calor sobre lâmina limpa
Adicionar verde de malaquita
Lavar
Adicionar Safranina ou Fucsina
Observar= esporos (verdes)

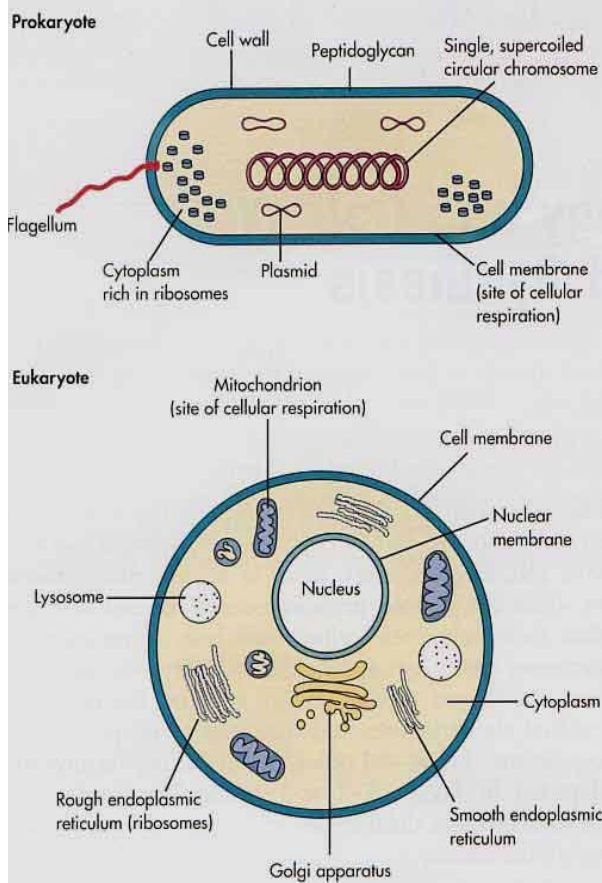
Composição das estruturas bacterianas

Macromolécula	Subunidade Primária	Distribuição
Proteínas	aminoácidos	Flagelo, pili, parede celular, membrana citoplasmática, ribossomas, citoplasma
Polissacarídeos	Açúcares	cápsulas, corpos de inclusão (armazenamento), parede celular
Fosfolipídeos	Ácidos graxos	membranas
Ácidos nucleicos (DNA/RNA)	nucleotídeos	DNA: nucleóide (cromossoma), plasmídeos rRNA: ribossomas, mRNA, tRNA, citoplasma

Características das estruturas bacterianas

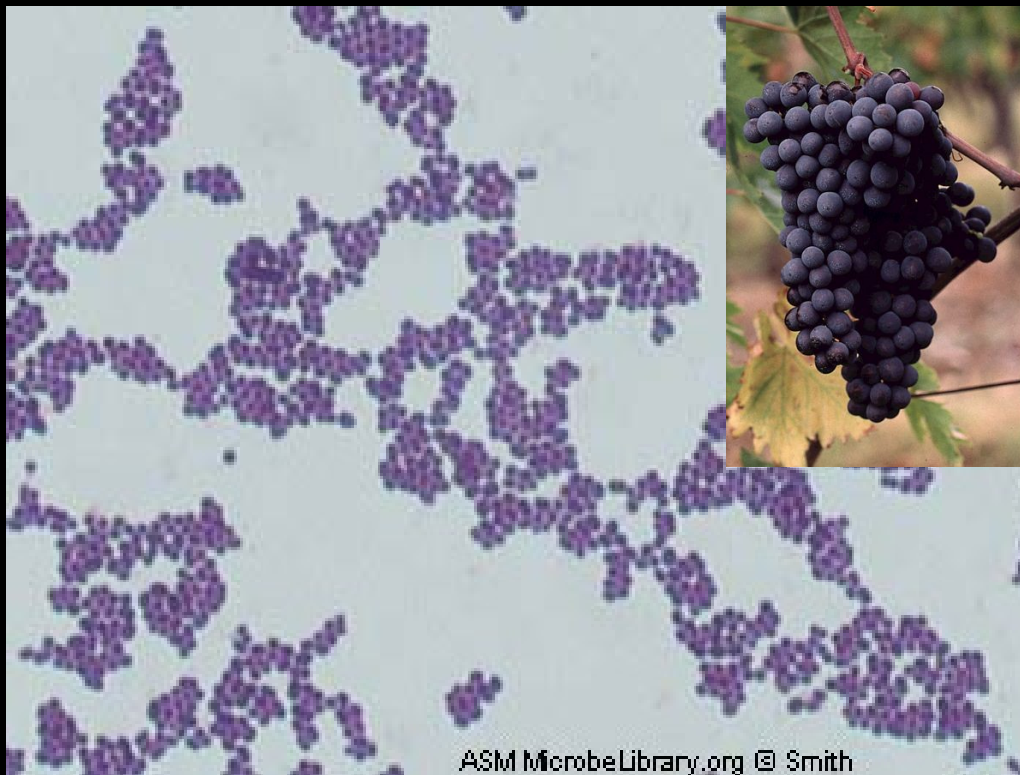
Estrutura	Função
Flagelo	Motilidade
Pili	
Pili sexual	Media a transferência de plasmídeo durante a conjugação
Pili ou fimbria	Adesão
Cápsulas e <i>slime</i>	Adesão, Proteção contra fagocitose e dessecação
Parede celular	
Gram positivo	Rigidez e forma da célula
Gram negativo	Rigidez e forma da célula; Barreira externa impermeável associada a LPS e proteínas
Membrana plasmática	Barreira externa impermeável; transporte de solutos; geração de energia, localização de vários sistemas enzimáticos
Ribossomas	Síntese protéica
Cromossoma	Material genético da bactéria
Plasmídeo	Material genético extracromossomal

Características de Procariotas (Eubactérias) e Eucariotas (Fungos e Protozoários)



Características	Procariotes (bactéria)	Eucariotes (fungos, protozoários)
Estrutura nuclear	DNA circular livre	Complexo DNA-proteínas básica
Localização da estrutura nuclear	Emaranhado denso de DNA no citoplasma; sem membrana nuclear; nucleóide	Núcleo rodeado por membrana nuclear
DNA	Núcleoóide e plasmídeo	No núcleo e na mitocôndria
Citoplasma	Sem mitocôndria; sem retículo endoplásmico	Mitocôndria e retículo endoplásmico
Ribossomas	70S [50S (RNA 23S e RNA 5S) e 30S (RNA 16S)]	80S (sub. 60S e 40S)
Parede celular	Geralmente rígida com mureína (exceção = mycoplasmas)	Presente somente em fungos: glucanos, mananos, quitina, quitosana, celulosa
Reprodução	Assexuada por fissão binária transversa	Na maior parte sexual, possivelmente assexuada

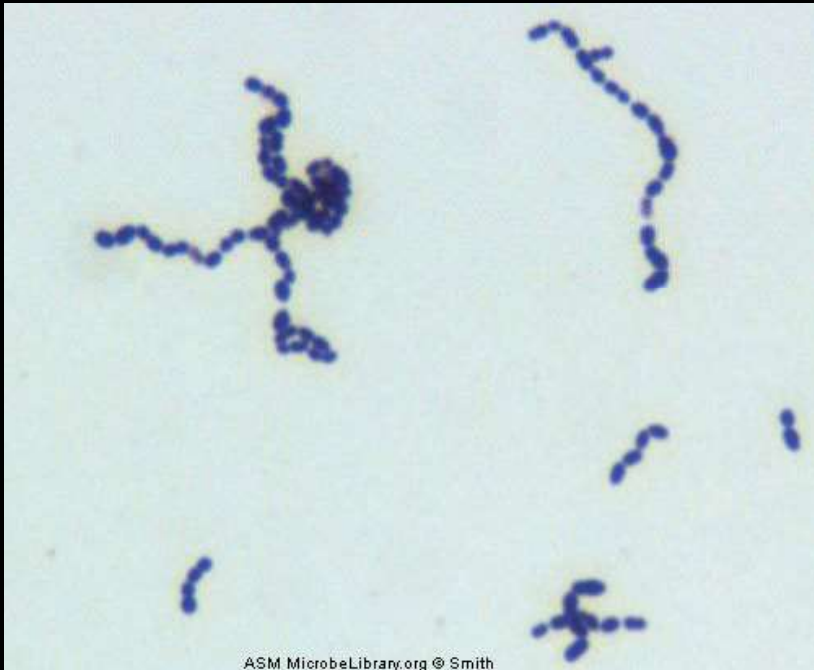
Cocos gram-positivos



**Agrupação em cacho de uva
(*Staphylococcus* spp.)**

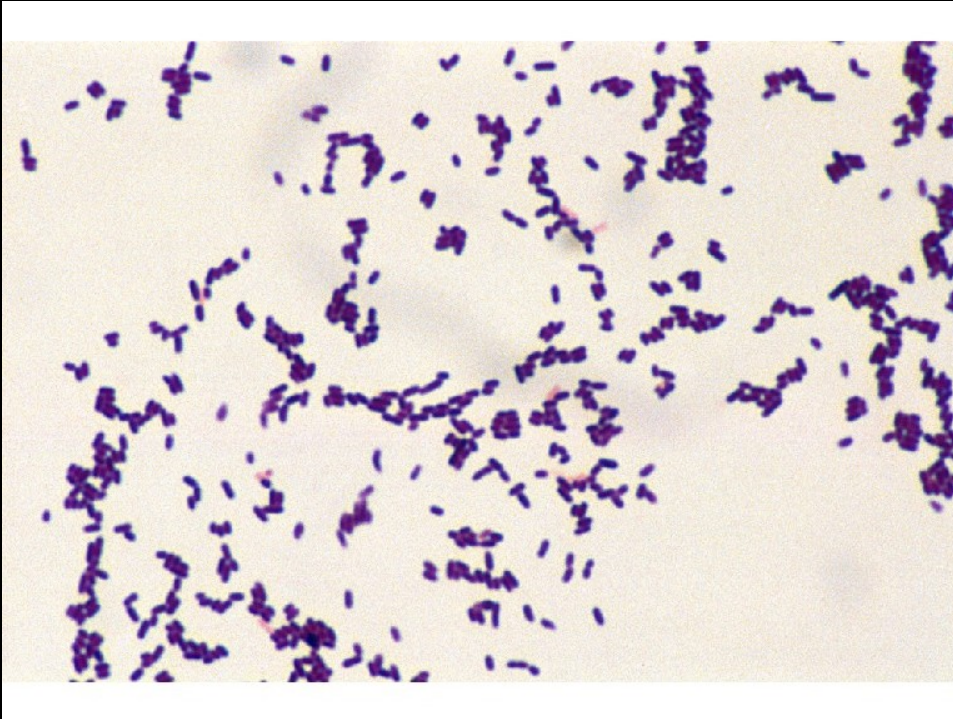


Cocos gram-positivos



Agrupação em cadeia
(*Streptococcus* spp.)

Bacilos gram-positivos



Listeria monocytogenes



Bacilos gram-positivos



Bacillus spp.



Corynebacterium spp.



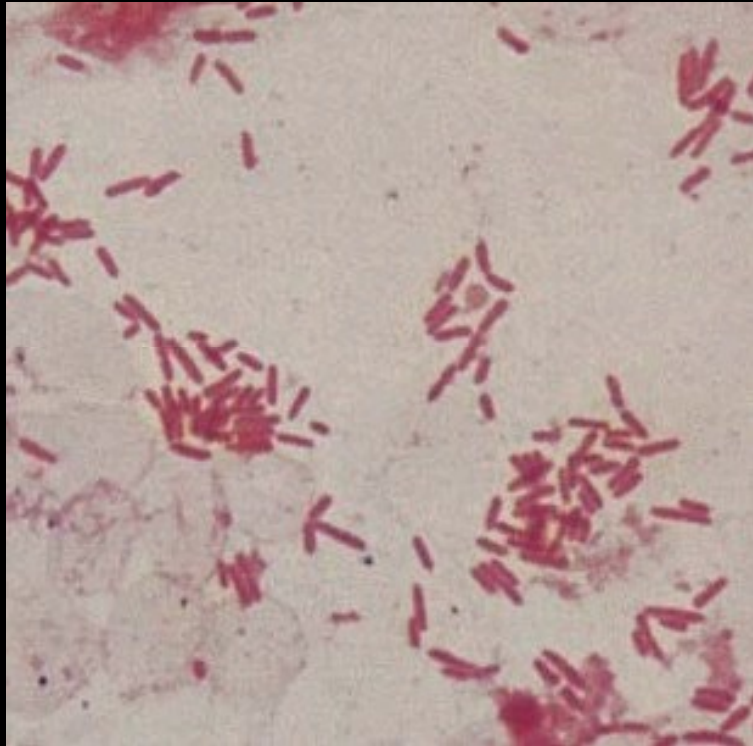
Streptomyces spp.

Bacilos gram-positivos



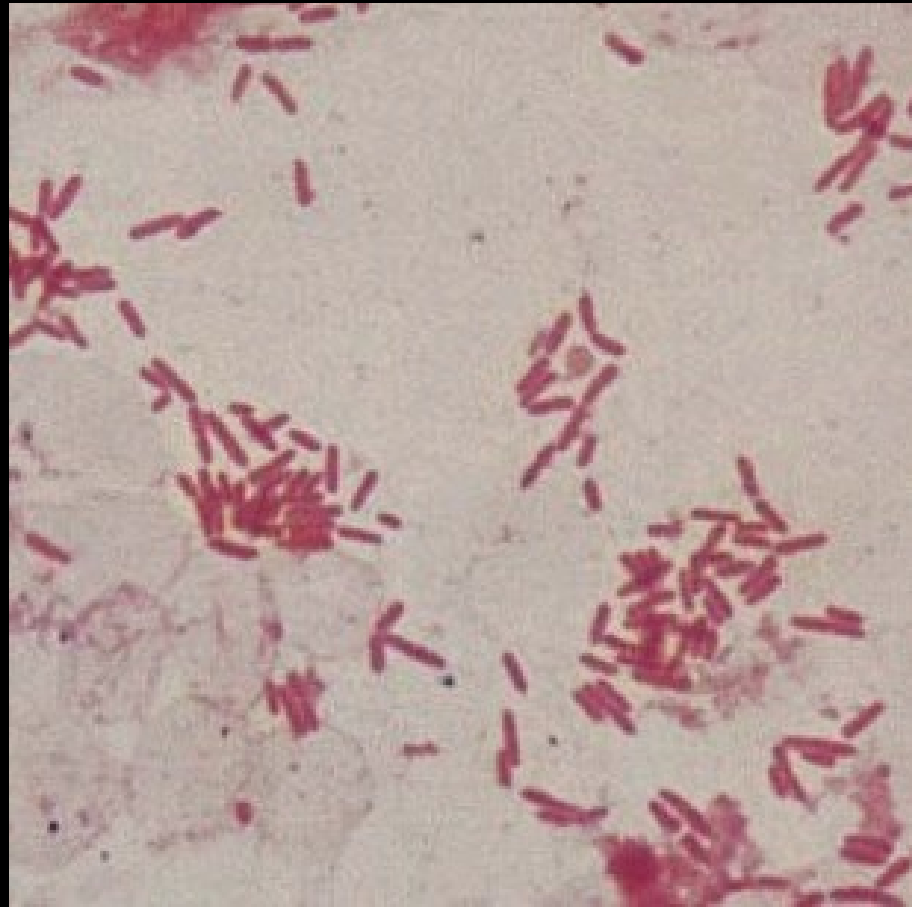
Bacillus cereus

Bacilos gram-negativos



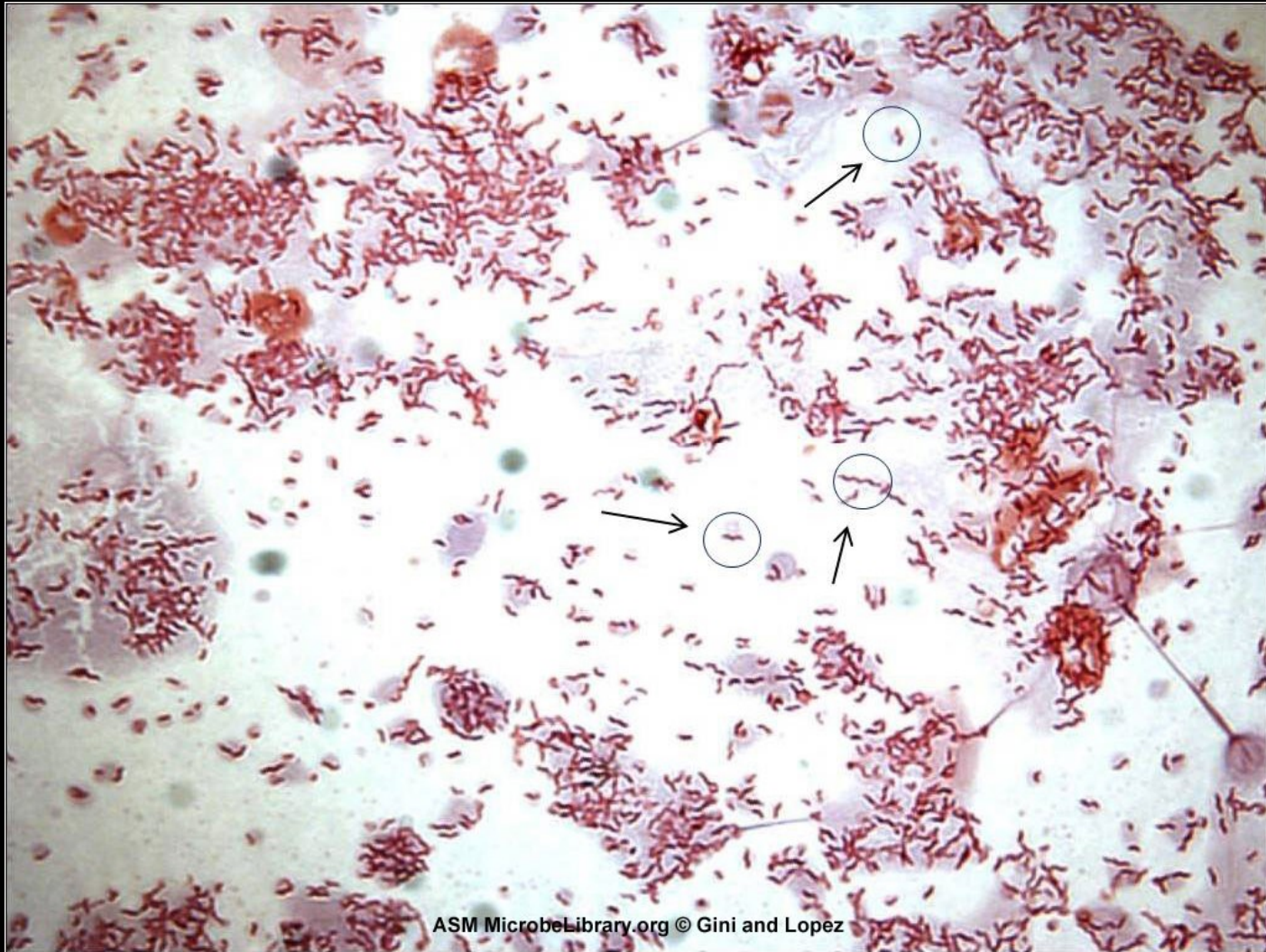
***Escherichia coli* O157:H7**

Bacilos gram-negativos



Pseudomonas spp.

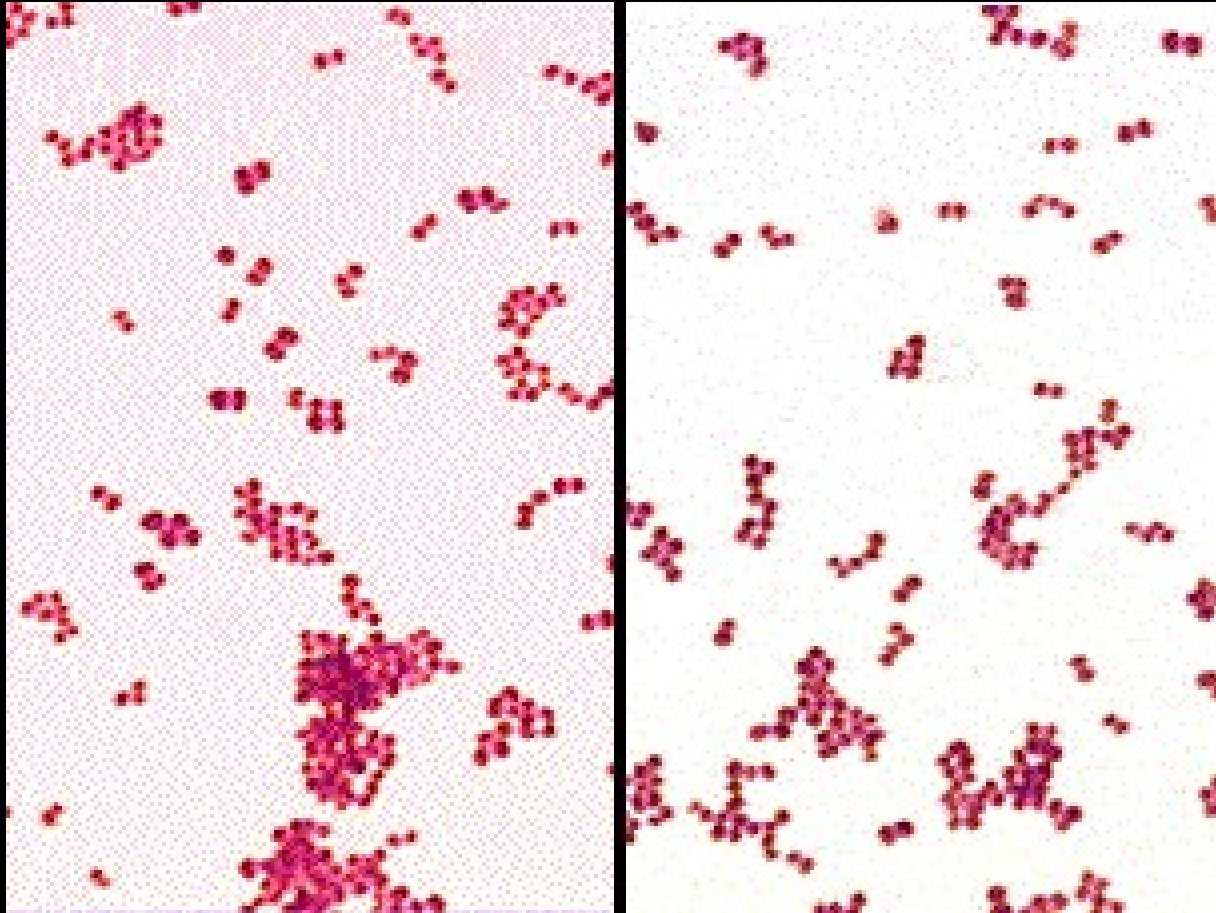
Bacilos gram-negativos curvos



ASM MicrobeLibrary.org © Gini and Lopez

***Campylobacter* spp., *Helicobacter* spp.**

Cocos gram-negativos



Neisseria spp.

Referências

Microscopy: http://www.jic.ac.uk/microscopy/intro_LM.html

Hump-Day History: Robert Hooke:

<http://etherwave.wordpress.com/2008/09/17/hump-day-history-robert-hooke/#more-652>

Structure and Function of Bacterial Cells:

<http://bioinfo.bact.wisc.edu/themicrobialworld/structure.html>

Medical Microbiology Book: <http://gsbs.utmb.edu/microbook/>

Bacteriology: http://pathmicro.med.sc.edu/fox/cell_envelope.htm

Trabulsi, L. R., Alterthum, F. (Org.). Microbiologia 5 Edição. São Paulo: Atheneu, 2008.

Microbiologia de Brock 10a edição. Person/Prentice Hall. 2004.

Color Atlas of Medical Microbiology Kayser, Thieme 2005.