



*Universidade Federal do Acre
Centro de Ciências, saúde e
desporto*

Curso: Medicina

Disciplina: Microbiologia Médica

Histórico da microbiologia

*Prof. Ricardo Rocha
ricardo.ufac@gmail.com*

ANTES DOS MICROORGANISMOS

- 1665- Robert Hooke – Início da **teoria celular**- descobrimento das células
“todas as coisas vivas são compostas por células”.

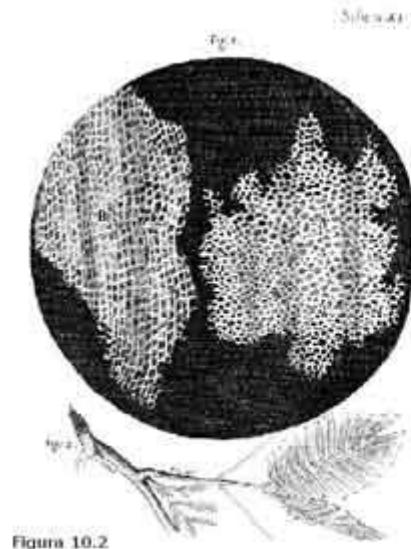
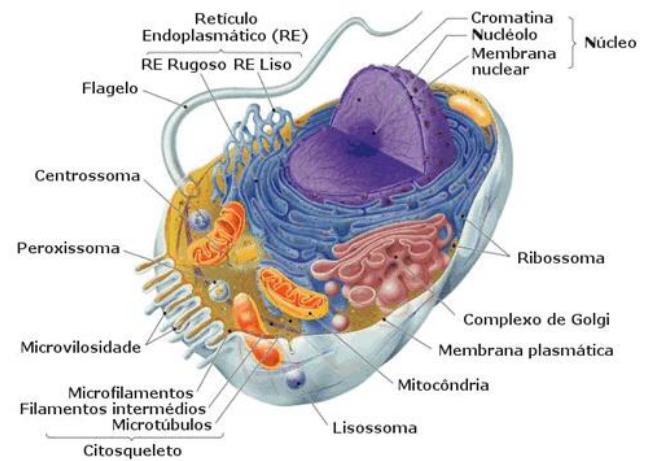
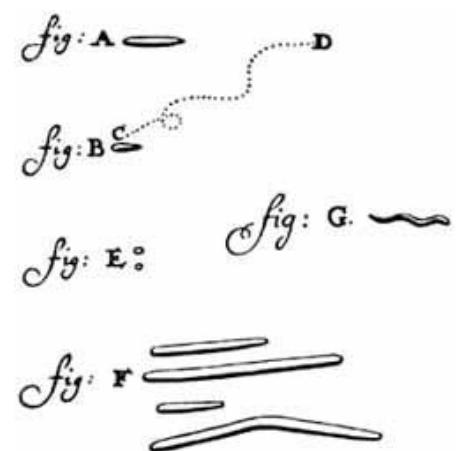


Figura 10.2



OS PRIMEIROS MICROORGANISMOS

- 1673-1723 – Anton von Leeuwenhoek
- Primeiro a observar microorganismos (animáculos)
- Fabricava próprios microscópios
- Chuvas, fezes, raspado de dente
- Bactérias e protozooários



TEORIAS- ABIOGÊNESE X BIOGÊNESE

Abiogênese- Vida surge da matéria morta (Geração espontânea) - menos de 100 anos!

- Sapos, cobras e ratos nascem do lodo
- Ratos do estrume
- Larvas de insetos de corpos em decomposição.

"As criaturas tais como os piolhos, carapatos, e larvas são nossos miseráveis hóspedes e vizinhos, porém nascem de nossas entradas e excrementos. Porque se colocarmos roupa íntima cheia de suor com trigo num recipiente com uma grande abertura, ao cabo de vinte dias o cheiro se altera, e o fermento, surgindo da roupa íntima e penetrando por meio das cascas de trigo, transforma o trigo em ratos. Porém, o que mais chama a atenção é que se formam ratos de ambos os sexos, os quais poderão cruzar com ratos que tenham nascido pelo modo normal... Porém, o que é verdadeiramente incrível é que os ratos que surgiram do trigo e da roupa íntima suada não são pequeninos, nem disformes ou defeituosos, mas adultos e perfeitos..."

Jan van Helmont (1667)

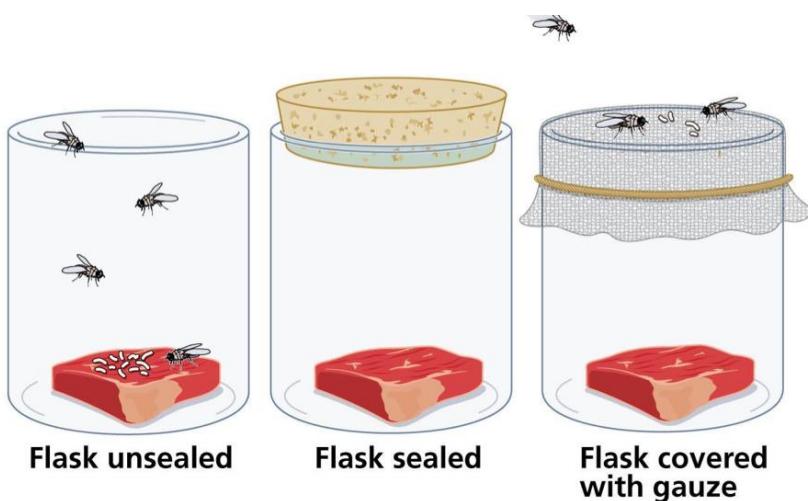
PRÓS E CONTRAS - ABIOGÊNESE X BIOGÊNESE

- 1668- Francisco Redi (físico italiano)
- Primeiros experimentos a desafiar a teoria da geração espontânea



1º Experimento:

Antagonistas: “Ar fresco é necessário para ocorrer a vida **espontaneamente**



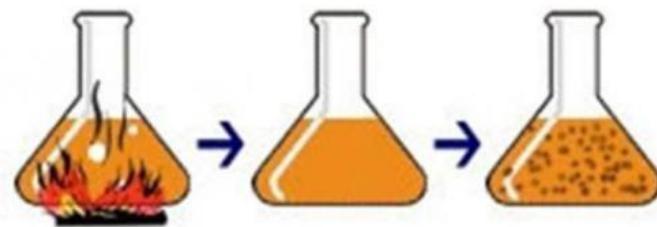
2º Experimento- Forte golpe

Entretanto surgiam outras formas (fungos , bactérias)

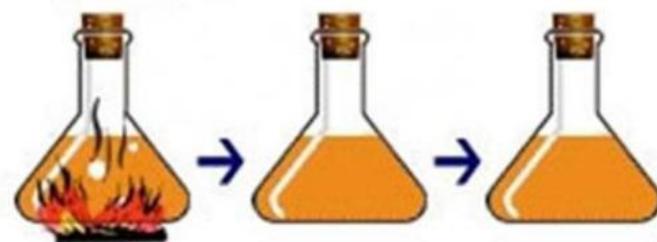
PRÓS E CONTRAS - ABIOGÊNESE X BIOGÊNESE

- 1745- John Needham (Cientista Inglês)
- Contrariou a teoria de Redi
- força vital (Ar)
- Experimento caldo nutritivo
- 1768- Lazzaro Spallanzani (Padre Italiano) – micróbios vêm do ar
- Variação do experimento de Needham

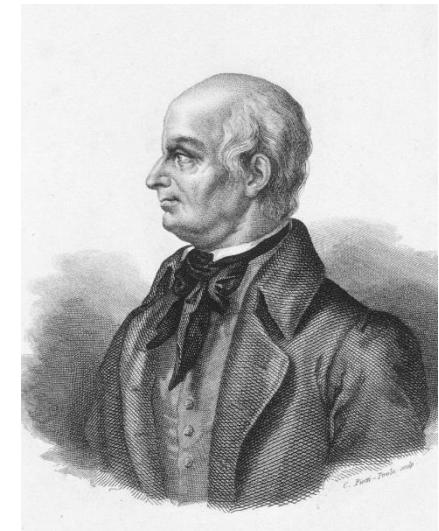
Exp: Needham



Exp: Spallanzani

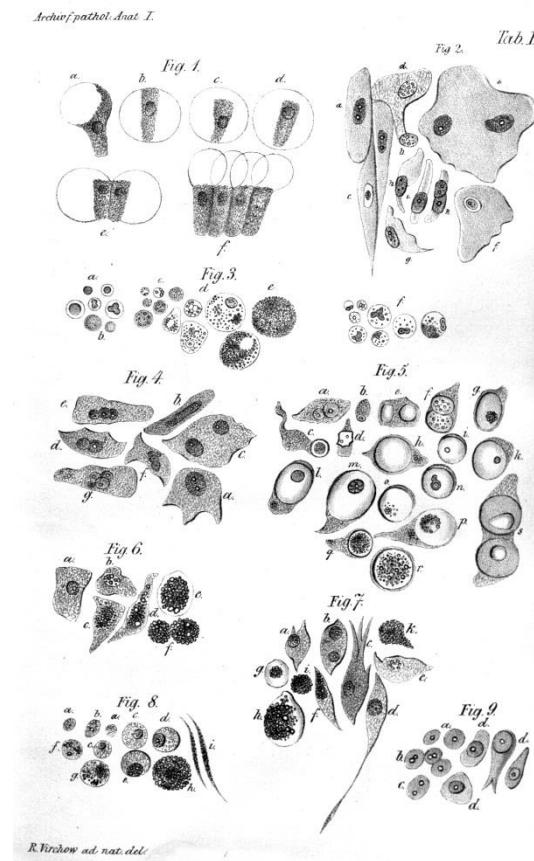


Lavoisier corrobora pra teoria da geração expontânea



PRÓS E CONTRAS - ABIOGÊNESE X BIOGÊNESE

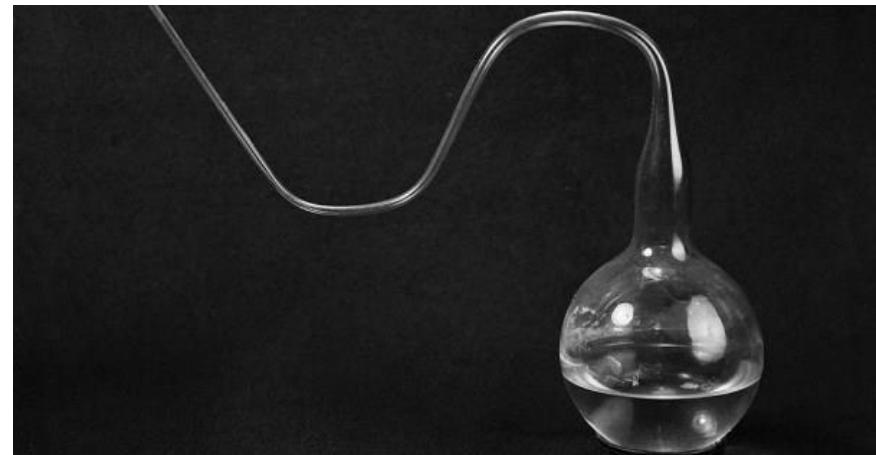
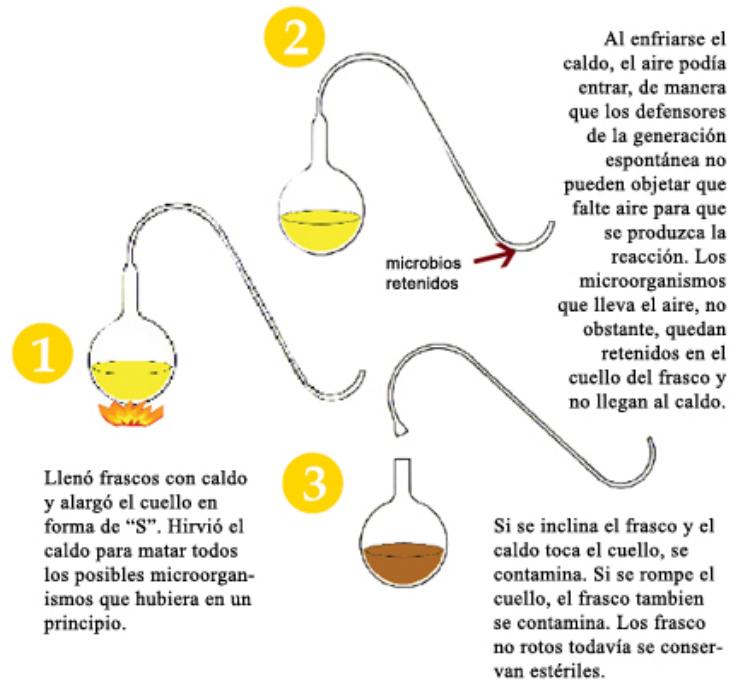
- 1858- Rudolf Virchow (Médico alemão)
- “Células vivas só poderiam surgir de células vivas pré-existentes”.
- Complementa a teoria celular
- Observou e registrou
As divisões de algumas células



PRÓS E CONTRAS - ABIOGÊNESE X BIOGÊNESE

Teoria dos germes

- 1861- Louis Pasteur (Químico francês)
- Microorganismos vinham do ar e contaminavam material estéril
- Invalida a teoria da geração espontânea: “microorganismos não surgem de matéria não viva”
- Experimento com gargalo “pescoço de cisne” em caldo nutritivo)
-



IDADE DE OURO DA MICROBIOLOGIA

- Microbiologia como ciência
- Agentes de doenças
- Papel da imunidade
- Métodos de prevenção e tratamento
- Vacinas
- Técnicas cirúrgicas
- Descoberta de microorganismos patogênicos
- Atividades químicas dos microorganismos
- Melhora nas técnicas de microscopia e de cultivo de microorganismos.



RELAÇÃO MICROORGANISMOS E DOENÇAS

- Mercadores franceses – Porque cervejas e vinhos azedavam quando transportados por longa distância??
- Teoria pré-pasteuriana: AR + AÇÚCAR (uvas e cevadas) → ÁLCOOL
- Teoria pasteuriana: LEVEDURAS + AÇÚCAR (uvas e cevadas) → ÁLCOOL
- Teoria pasteuriana: BACTÉRIAS + ÁLCOOL → AZEDAMENTO (VINAGRE)
- Princípio da pasteurização: Aquecer os líquidos até o ponto para matar microorganismos , sem alterar o sabor e a qualidade da bebida.
- A comprovação de pasteur levou a pergunta de alguns pesquisadores:
- Se germes deterioravam bebidas , poderiam causar doenças???
- Teoria dos germes difícil de aceitar naquela época: teoria miasmática e sobrenatural da causalidade das doenças.

TEORIA MISMÁTICA E ESPIRITUAL DAS DOENÇAS



La Peste Negra en Italia en 1348, según una ilustración de Marcello



- Pecados e punição individual
- Demônios e odores dos pântanos
- Impossível micrório ester no ar, infectar plantas, animais e ser transmitidos de uma pessoa à outra

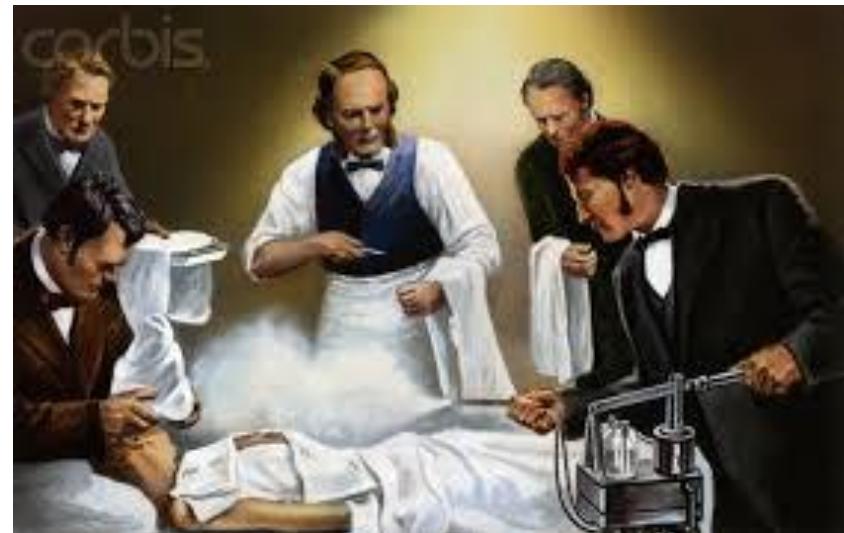
RELAÇÃO MICROORGANISMOS E DOENÇAS

1865- Agostino Bassi- Fungos do bicho da seda



1867- Pasteur descobre o protozoário do bicho da seda

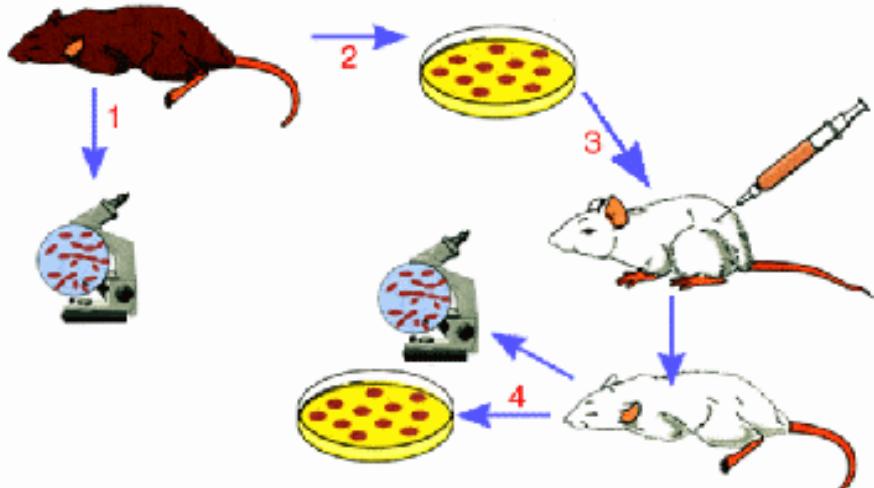
1847- Ignaz Semmelweis – Médico húngaro
- (Febre puerperal) Assepsia das mãos dos médicos antes do parto



1960- Joseph Lister- Cirurgião inglês
- Acreditava nos trabalhos de Pasteur relacionando microorganismos e doenças em animais
- Desinfecção de feridas – Fenol
- Técnica de Lister foi usado por outros cirurgiões

RELAÇÃO MICROORGANISMOS E DOENÇAS

- 1876- Robert Koch (médico alemão)
 - Provou a relação da doença com microorganismos
 - *Bacillus anthracis* (sangue do boi morto)
 - Postulado de Koch- Correlacionar uma doença específica a um micrório específico



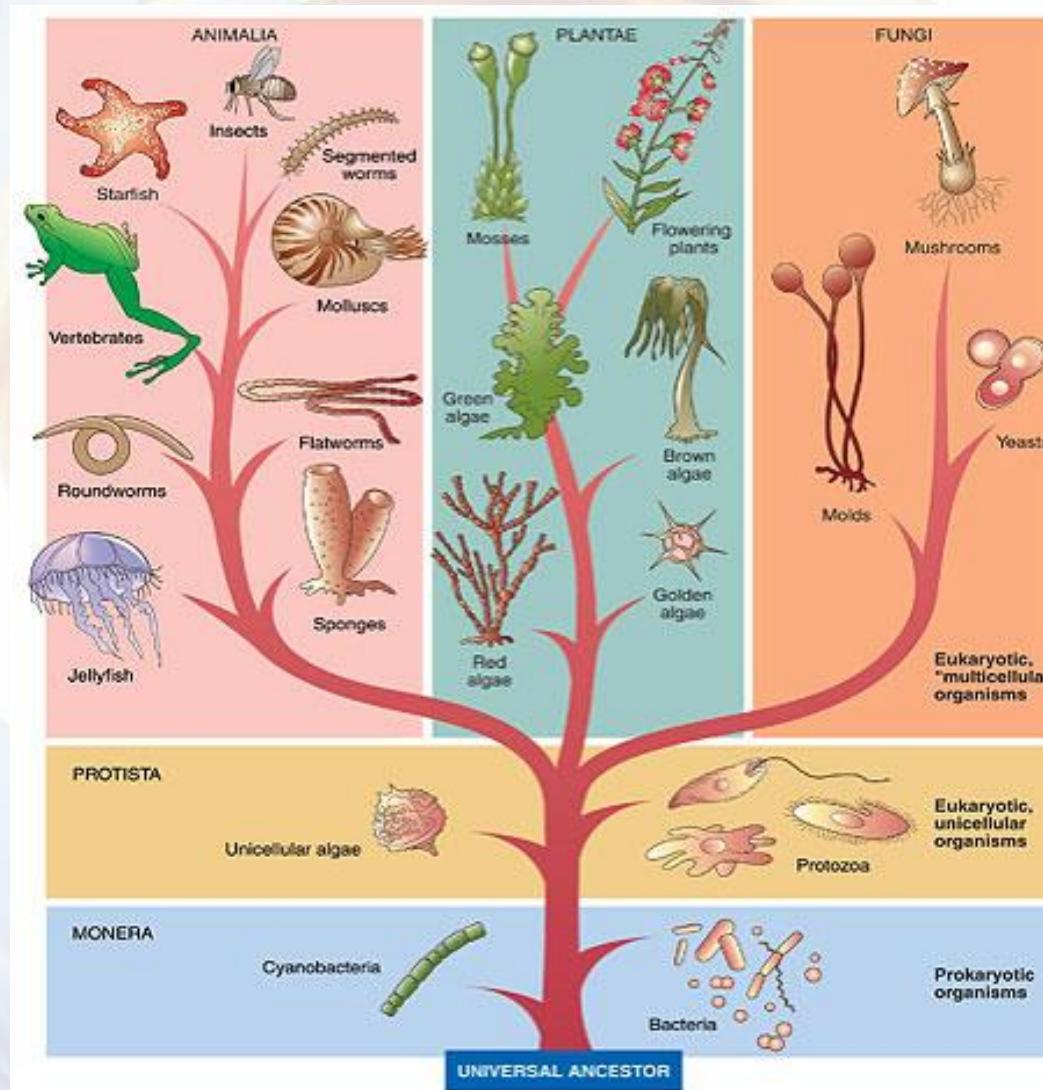
1. O microrganismo deve estar sempre presente nas lesões de hospedeiros doentes (**ASSOCIAÇÃO CONSTANTE**);
2. O micro-organismo deve ser isolado e cultivado em **CULTURA PURA**;
3. O micro-organismo isolado deve **REPRODUZIR OS SINTOMAS** quando inoculado em um hospedeiro sadio;
4. O microrganismo deve ser **REISOLADO** do hospedeiro inoculado artificialmente e corresponder, em todas as suas características, com o isolado das lesões do hospedeiro original.



MICROBIOLOGIA MÉDICA

Prof Ricardo Rocha
ricardo.ufac@gmail.com

Classificação dos Seres Vivos



Onde os microrganismos estão presentes?



O que é a microbiologia?

“Ramo da biologia que estuda os seres vivos microscópicos nos seus mais variados aspectos...”

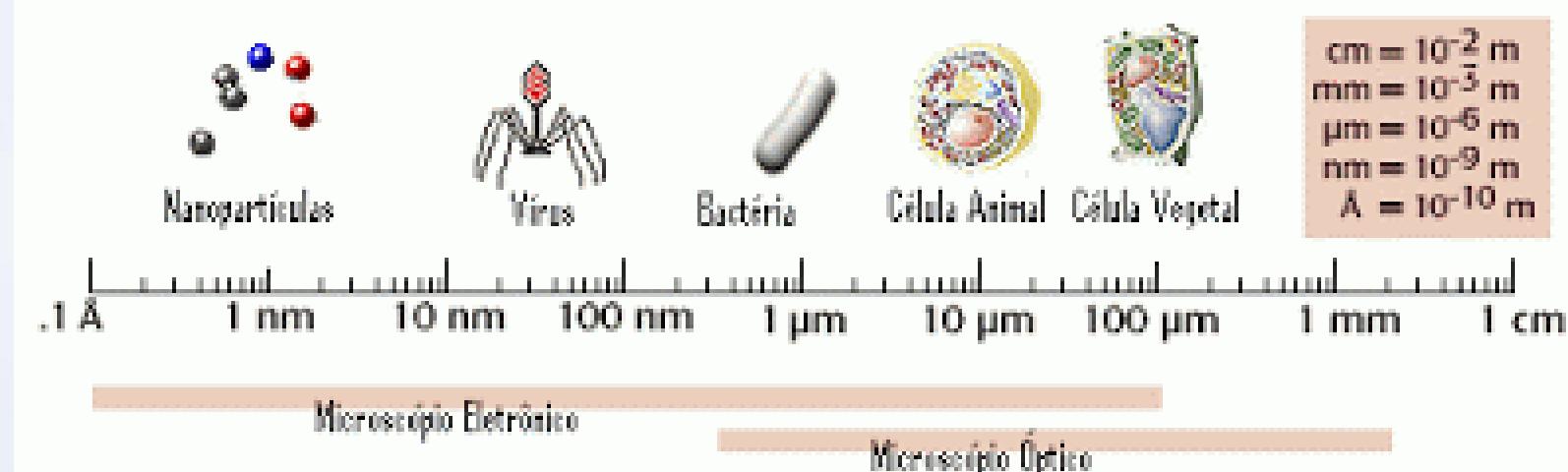
(Trabulsi & Althertum, 2008)

“ É o estudo de organismos microscópicos; tal denominação deriva de três palavras gregas: mikros (pequeno), bios (vida) e logos (ciência). Assim a microbiologia significa o estudo da vida microscópica.”

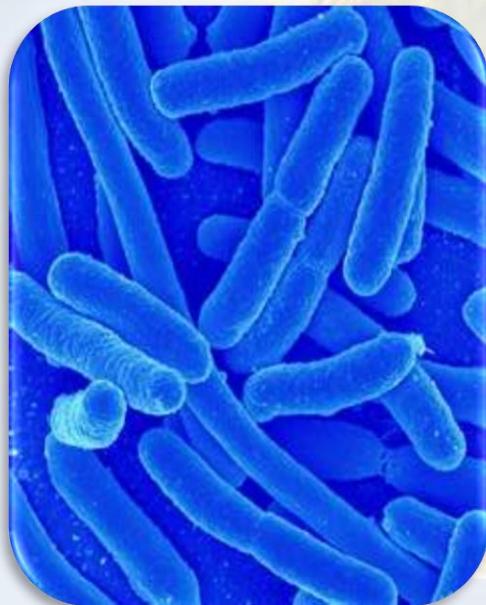
J.M. Ziman

INTRODUÇÃO CARACTERÍSTICAS IMPORTÂNCIA HISTÓRICO

Dimensões



Microrganismos



Bactérias

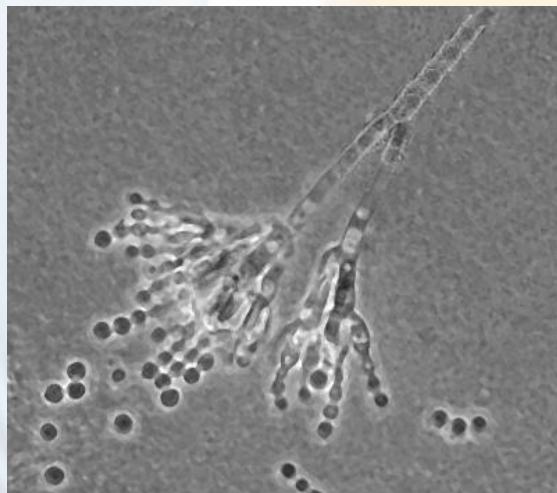
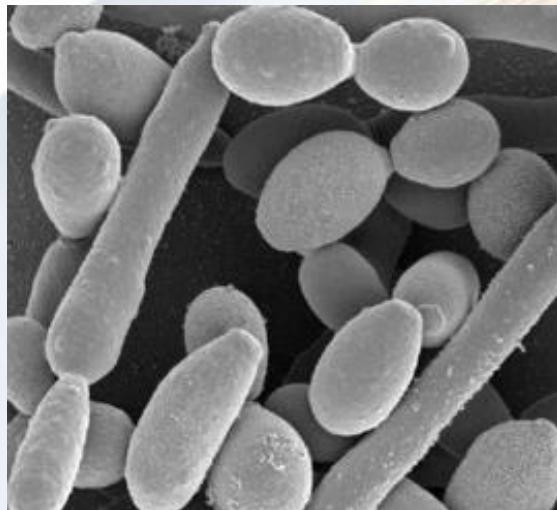


Fungos

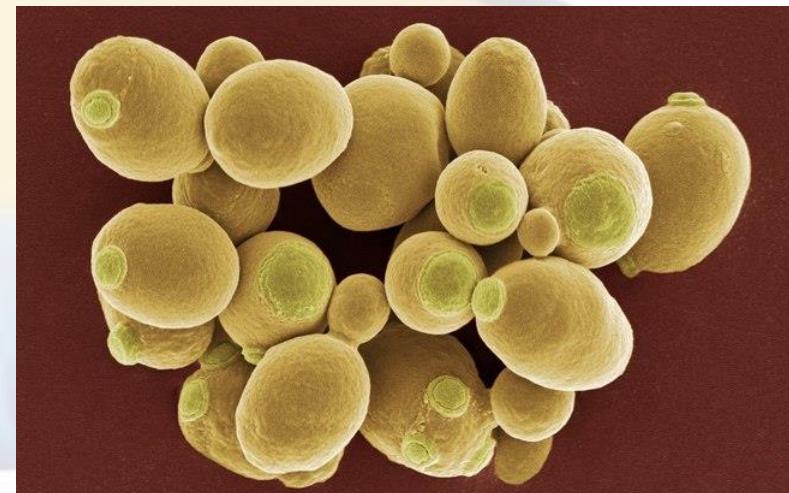


Vírus

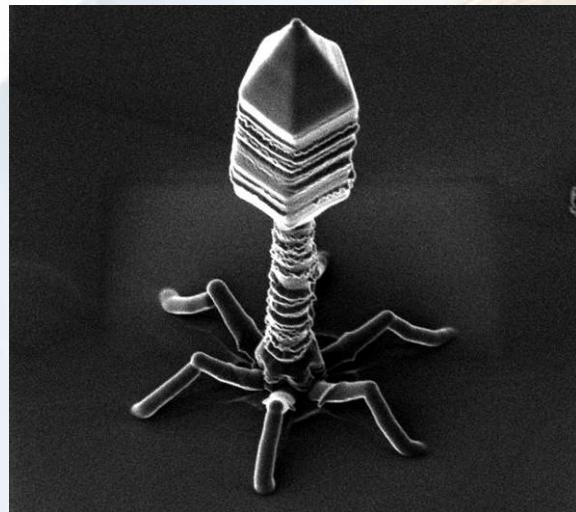
Fungos



- Seres eucariontes;
- Seres uni ou pluricelulares;
- Estrutura celular complexa;



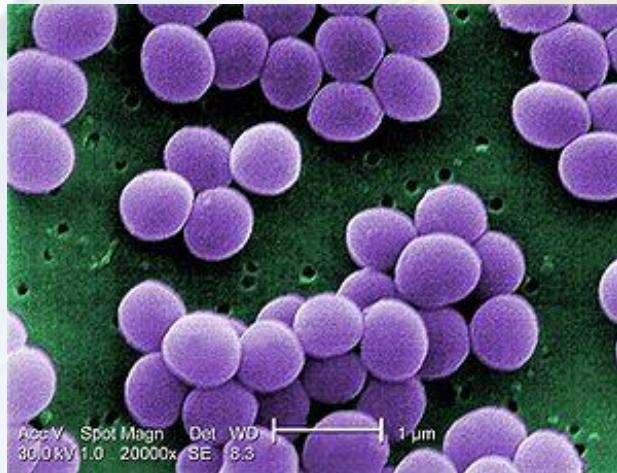
Vírus



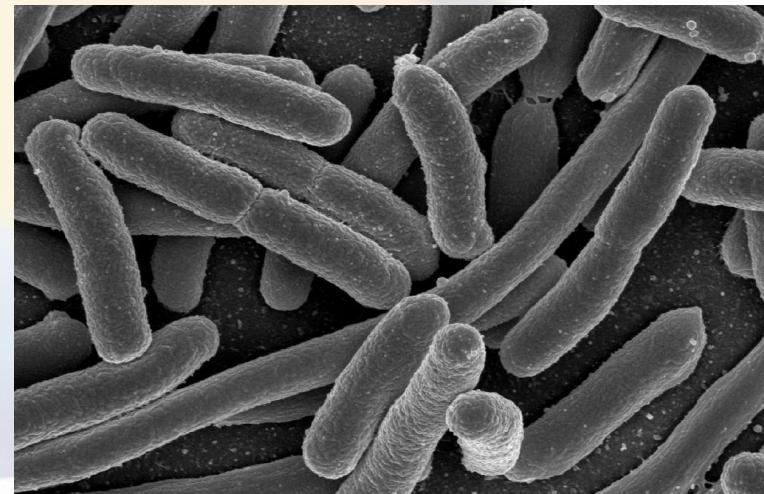
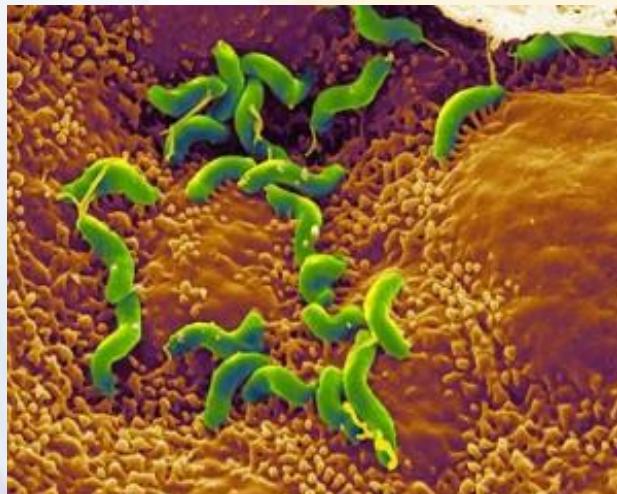
- Seres acelulares;
- Dimensões: 18 a 600 nanômetros;
- Ácido nucléico: DNA ou RNA;
- Ácidos nucleicos contidos em envelope proteico, com ou sem envelope lipídico.



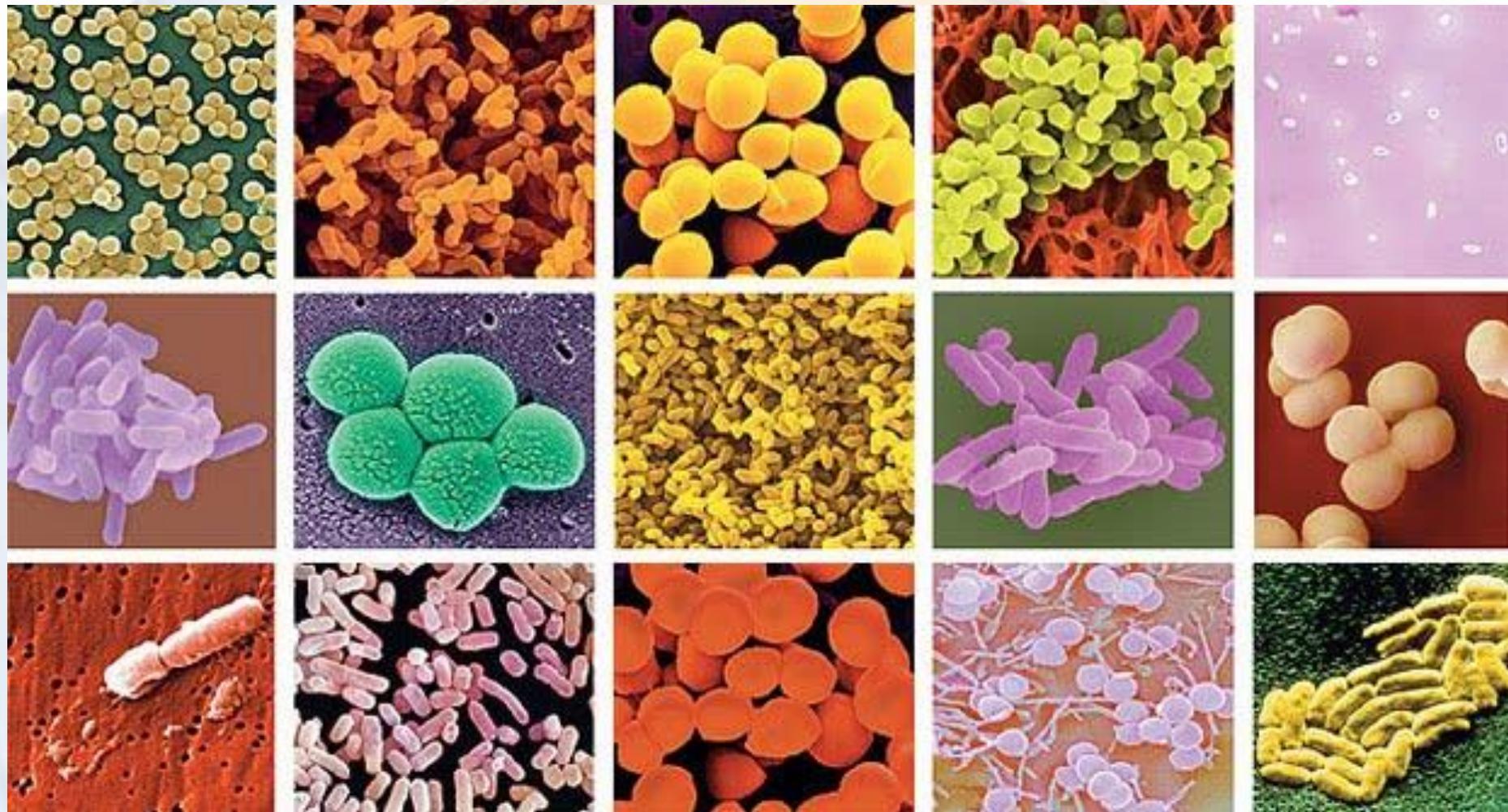
Bactérias



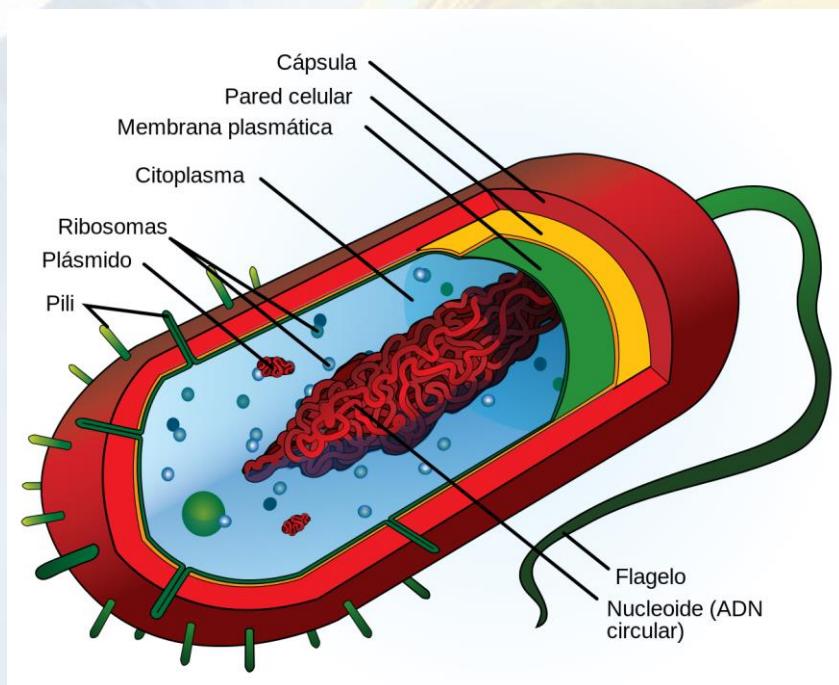
- Seres procariontes;
- Seres unicelulares;
- Estrutura celular simples;
- Diferentes tipos de parede celular.



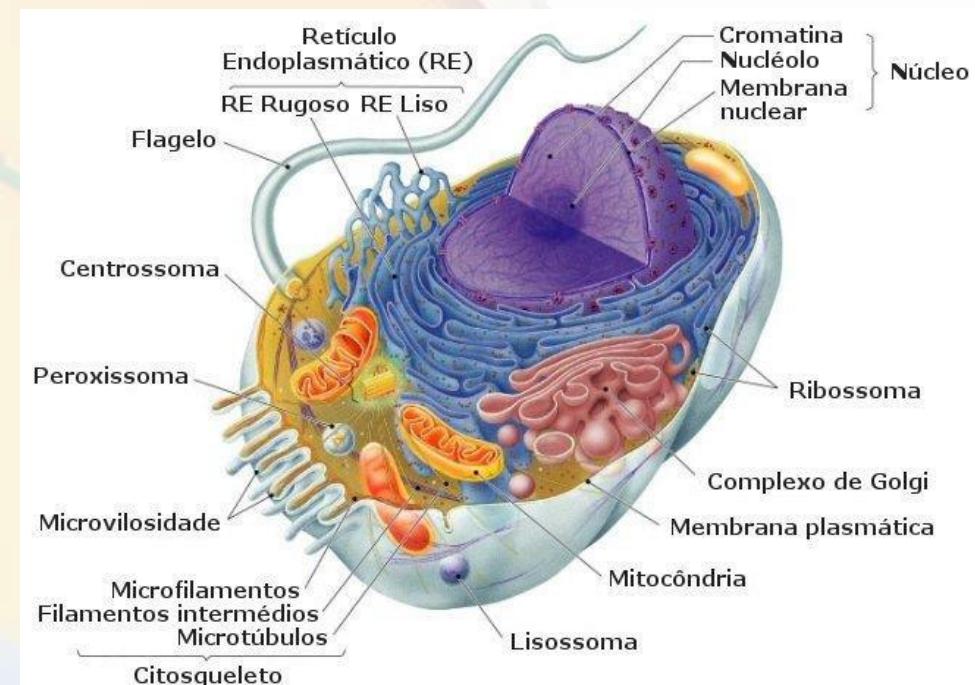
Bactérias



Bactérias



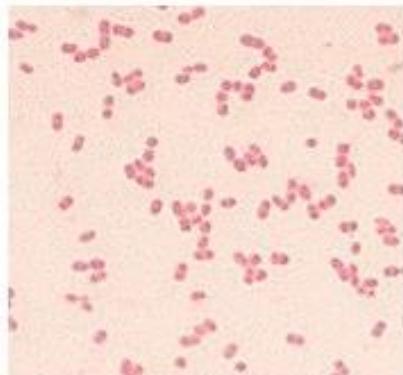
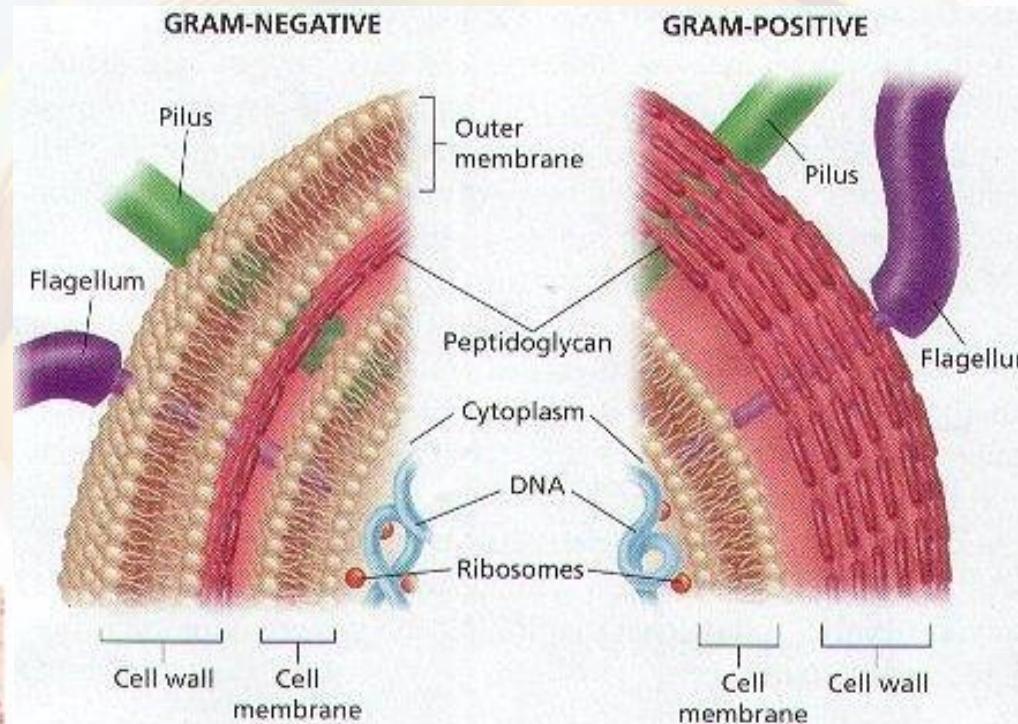
Procariótica



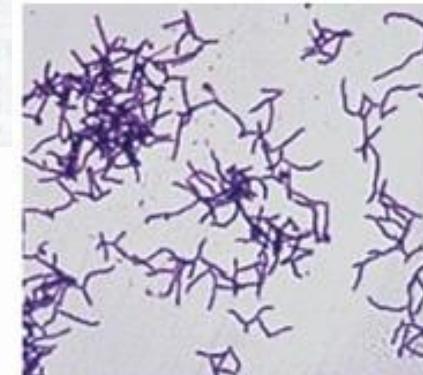
X

Eucariótica

Bactérias

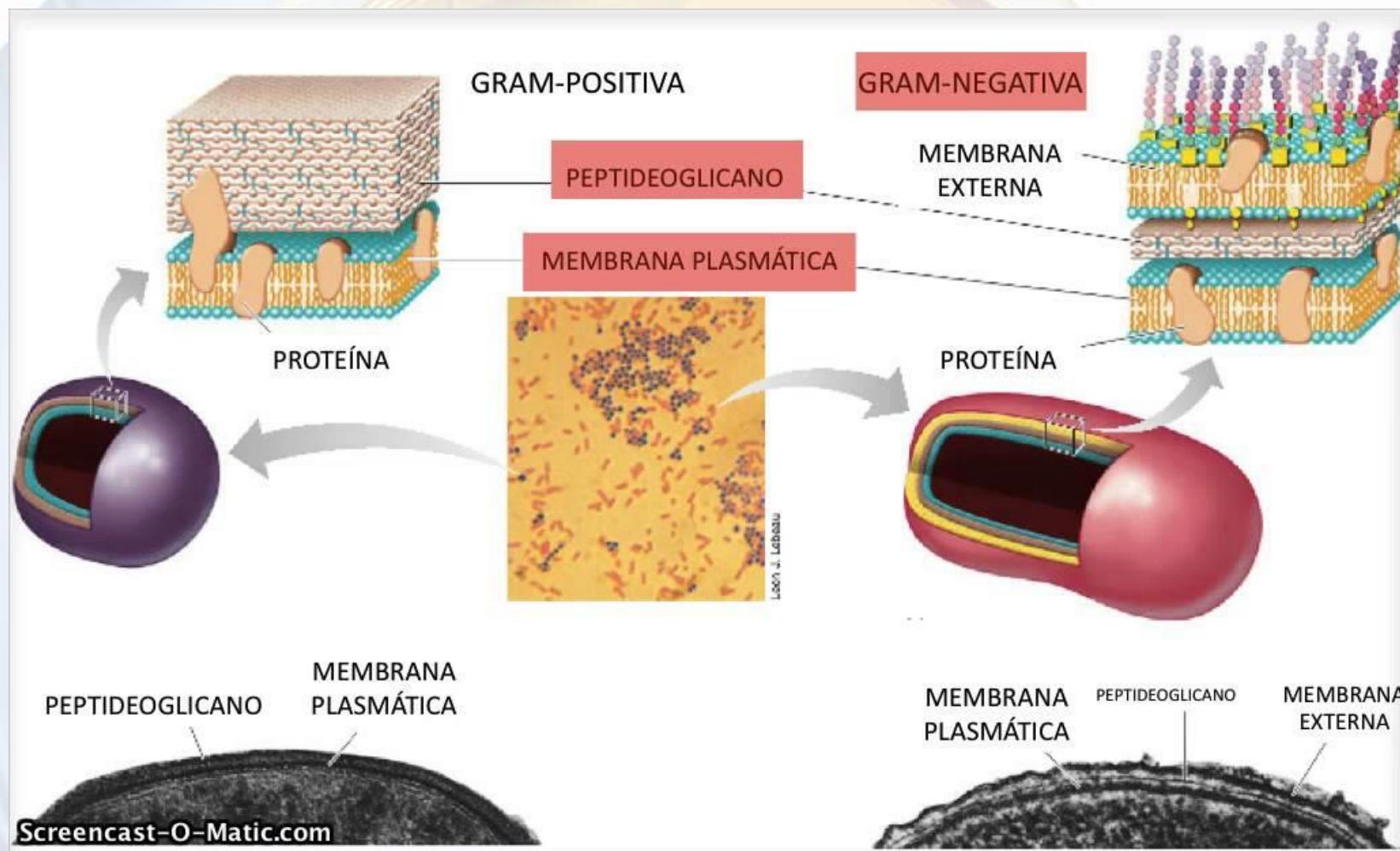


Gram-negativo



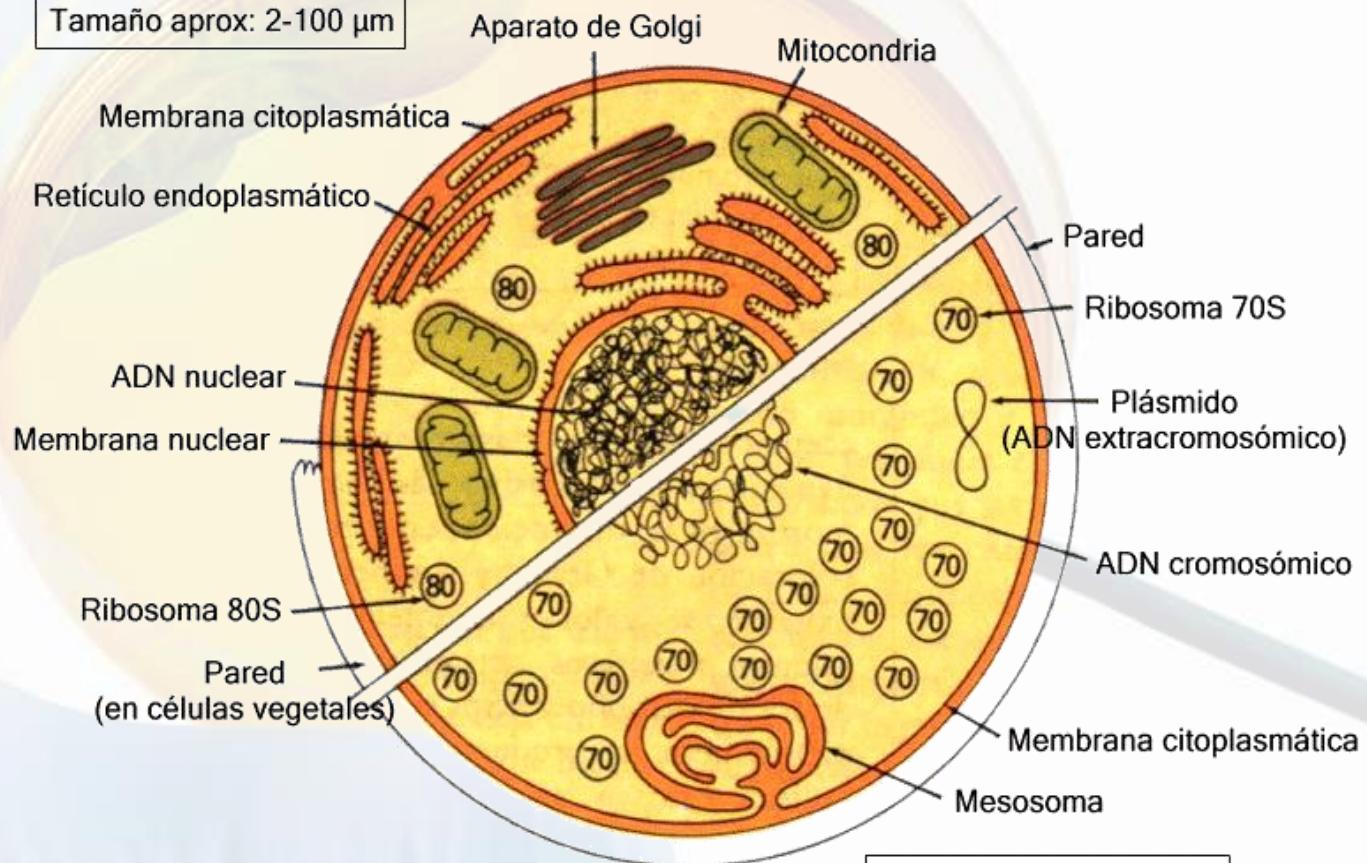
Gram-positivo

Bactérias



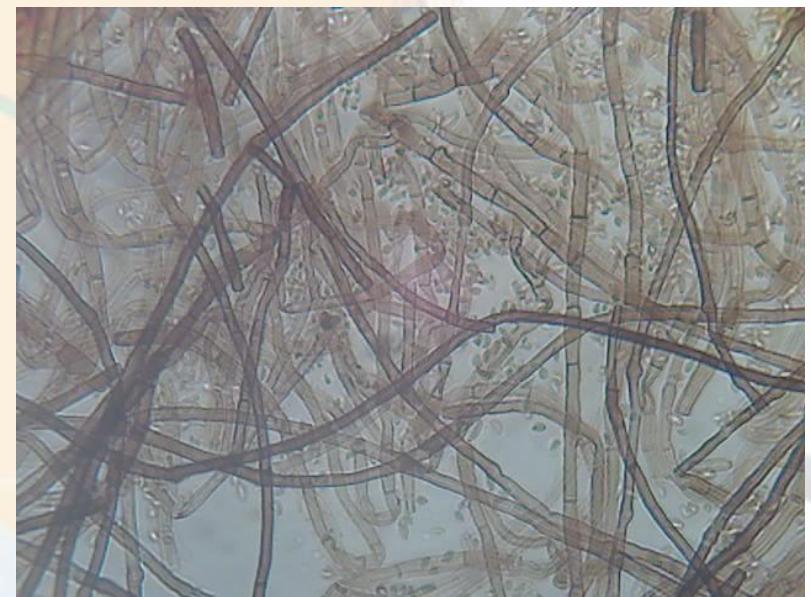
INTRODUÇÃO CARACTERÍSTICAS IMPORTÂNCIA HISTÓRICO

Célula Eucariota
Tamaño aprox: 2-100 μm



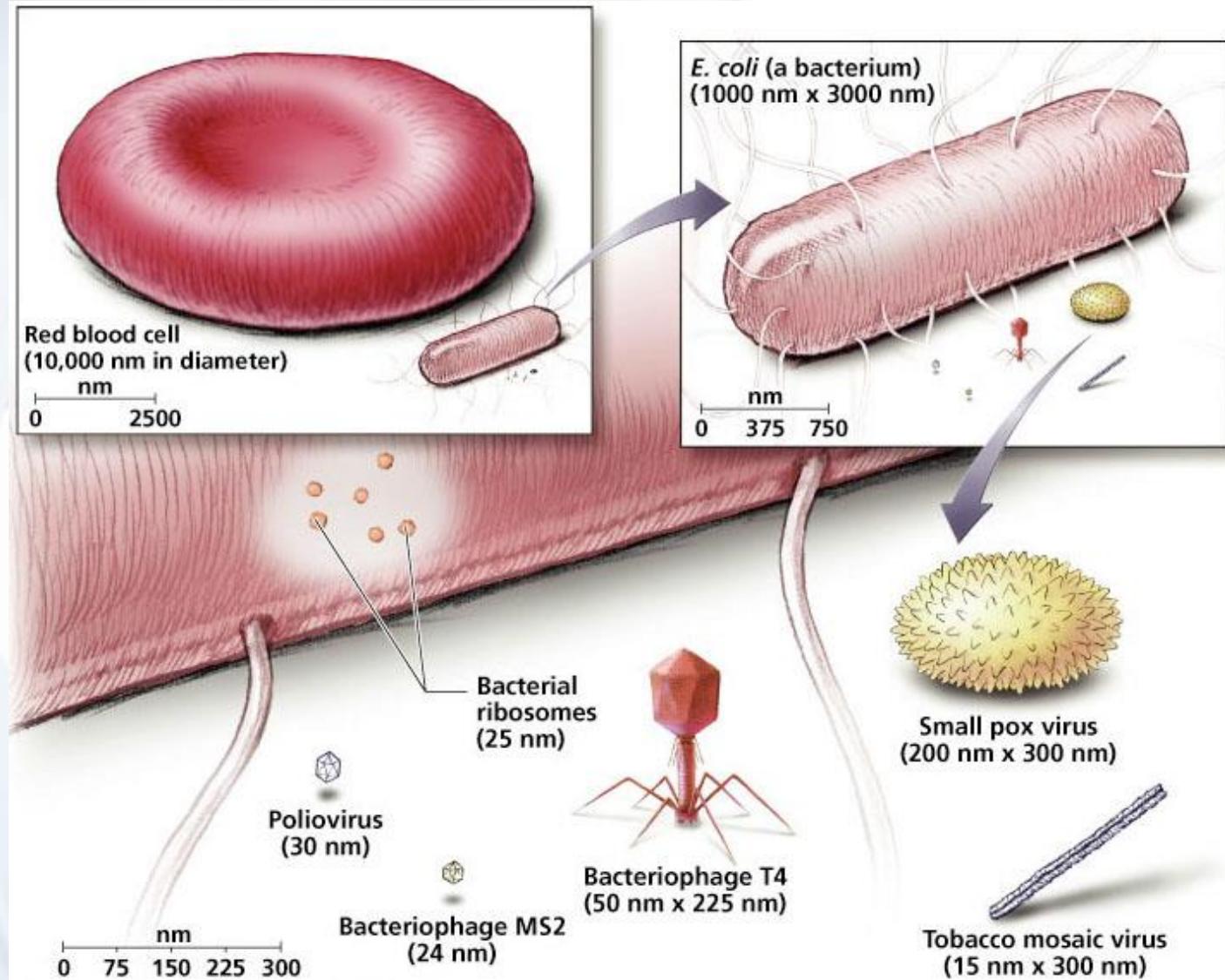
Célula Prokariota
Tamaño aprox: 0.5-3 μm

Fungos



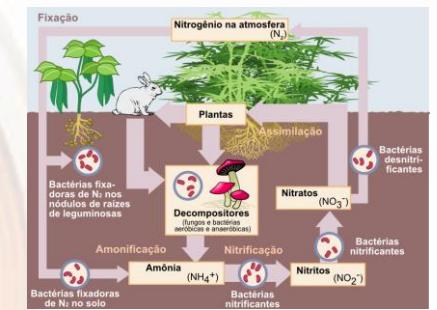
INTRODUÇÃO CARACTERÍSTICAS IMPORTÂNCIA HISTÓRICO

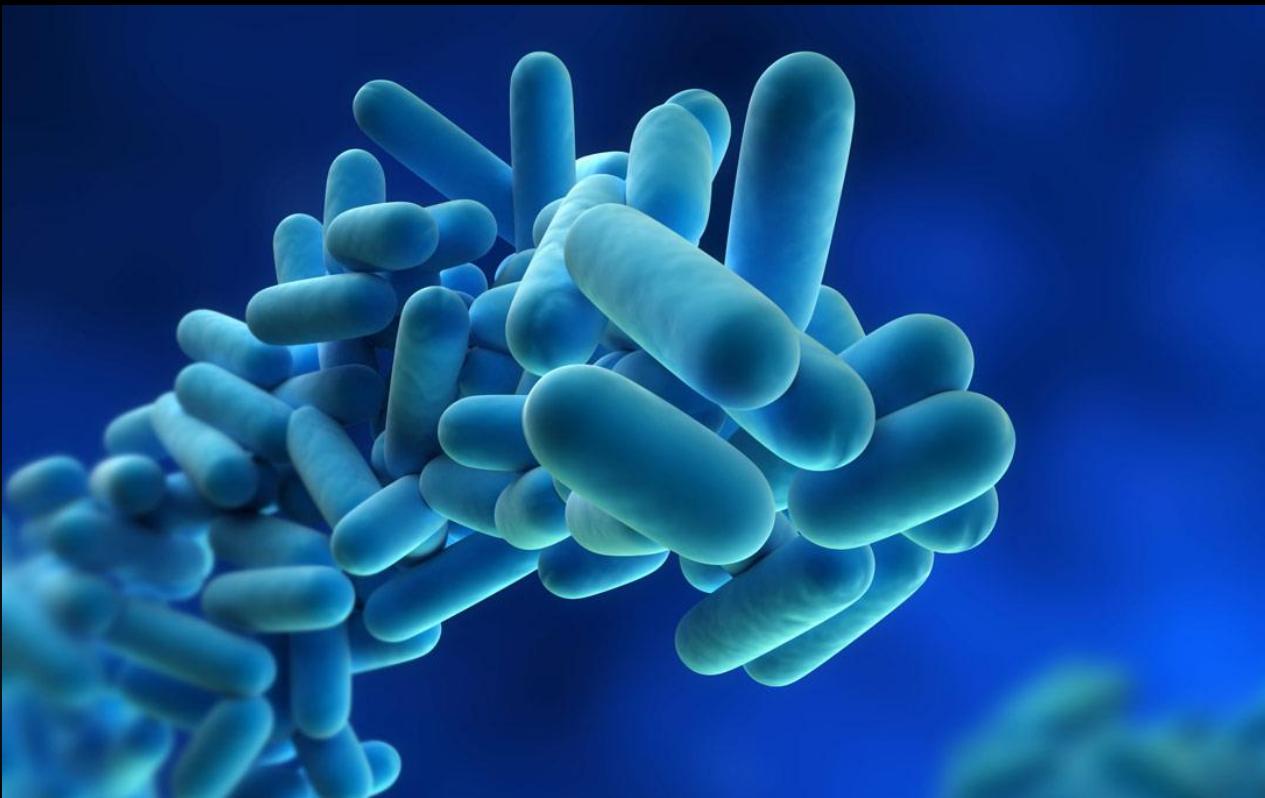
Vírus



INTRODUÇÃO CARACTERÍSTICAS IMPORTÂNCIA HISTÓRICO

- Reciclagem de elementos vitais (Ciclo do nitrogênio)
- Tratamento de esgotos (degradando)
- Biorremediação (Petróleo derramado)
- Controle de pragas (Controle da malária, dengue)
- Produção de antibióticos
- Indústria de alimentos





MORFOLOGIA BACTERIANA

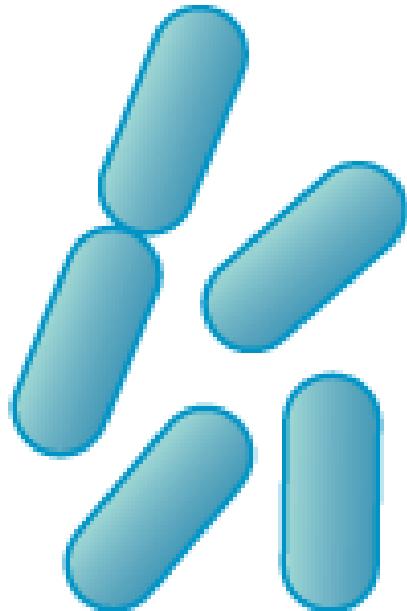
PROF. RICARDO ROCHA

Características	Género	Doenças representativas
I. Células com parede rígida e espessa		
A. De vida livre (bactérias extracelulares)		
1. Gram-positivas		
a. Cocos	<i>Streptococcus</i>	Pneumonia, faringite, celulite
b. Bacilos formadores de esporos	<i>Staphylococcus</i>	Abscesso de pele e outros órgãos
(1) Aeróbios	<i>Bacillus</i>	Antraz
(2) Anaeróbios	<i>Clostridium</i>	Tétano, gangrena gasosa, botulismo
c. Bacilos não formadores de esporos		
(1) Não filamentosos	<i>Corynebacterium</i>	Difteria
	<i>Listeria</i>	Meningite
(2) Filamentosos	<i>Actinomyces</i>	Actinomicose
	<i>Nocardia</i>	Nocardiose
2. Gram-negativas		
a. Cocos	<i>Neisseria</i>	Gonorréia, meningite
b. Bacilos		
(1) Facultativos		
(a) Lineares		
(i) Organismos respiratórios	<i>Haemophilus</i>	Meningite
	<i>Bordetella</i>	Coqueluche
	<i>Legionella</i>	Pneumonia
(ii) Organismos zoonóticos	<i>Brucella</i>	Brucelose
	<i>Francisella</i>	Tularemia
	<i>Pasteurella</i>	Celulite
	<i>Yersinia</i>	Peste
(iii) Organismos entéricos e relacionados	<i>Escherichia</i>	Infecção do trato urinário, diarreia
	<i>Enterobacter</i>	Infecção do trato urinário
	<i>Serratia</i>	Pneumonia
	<i>Klebsiella</i>	Pneumonia, infecção do trato urinário
	<i>Salmonella</i>	Enterocolite, febre tifoide
	<i>Shigella</i>	Enterocolite
	<i>Proteus</i>	Infecção do trato urinário
(b) Curvos	<i>Campylobacter</i>	Enterocolite
	<i>Helicobacter</i>	Gastrite, úlcera péptica
	<i>Vibrio</i>	Cólera
(2) Aeróbios	<i>Pseudomonas</i>	Pneumonia, infecção do trato urinário
(3) Anaeróbios	<i>Bacteroides</i>	Peritonite
3. Acidoresistentes	<i>Mycobacterium</i>	Tuberculose, hanseníase
B. De vida não livre (parasitas intracelulares obrigatórios)	<i>Rickettsia</i>	Febre maculosa das Montanhas Rochosas, tifo, febre Q
	<i>Chlamydia</i>	Uretrite, tracoma, psitacose
II. Células com parede flexível e delgada (espiroquetas)	<i>Treponema</i>	Sífilis
	<i>Borrelia</i>	Doença de Lyme
	<i>Leptospira</i>	Leptospirose
III. Células desprovidas de parede	<i>Mycoplasma</i>	Pneumonia

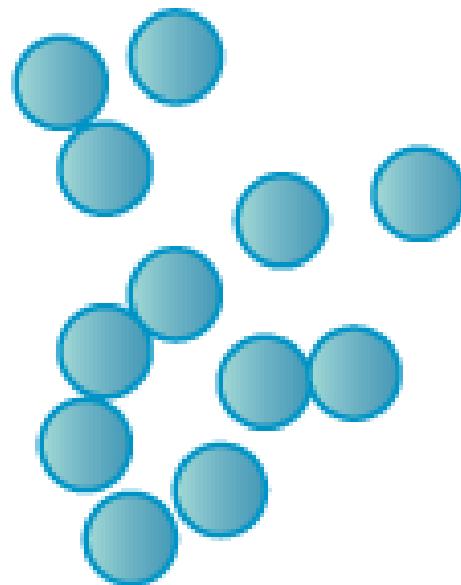
Morfologia Bacteriana

- A maioria varia de 0,2 a 2,0 μm de diâmetro e 2,0 – 8,0 μm de comprimento
- Três formas bacterianas básicas:
 - Cocos
 - Bacilos
 - Espirais
- Forma bacteriana determinada pela hereditariedade
- Maioria monomórfica
- Algumas são geneticamente pleomórficas

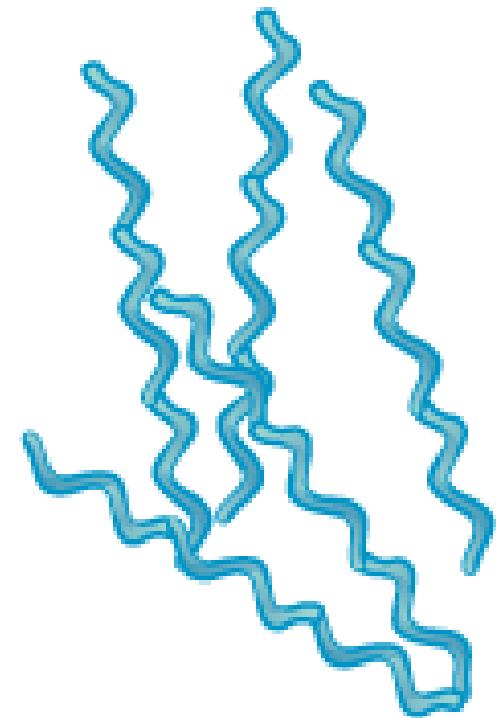
Formas Bacterianas



bacillus
(bacilo)

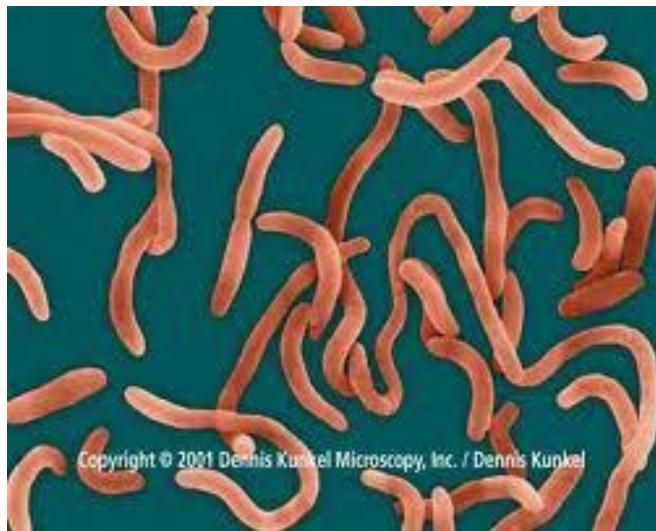
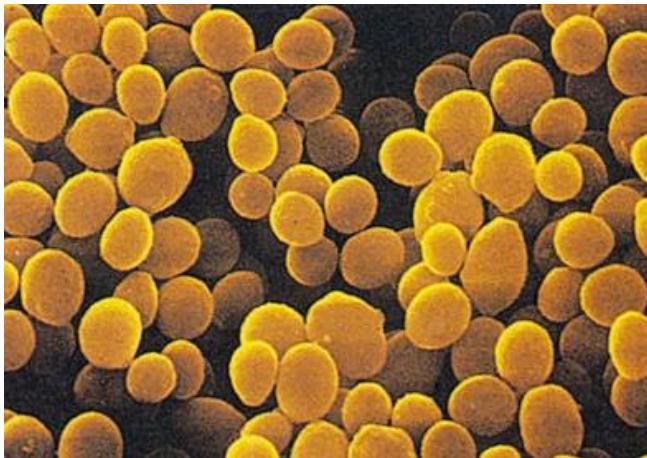


coccus
(coco)

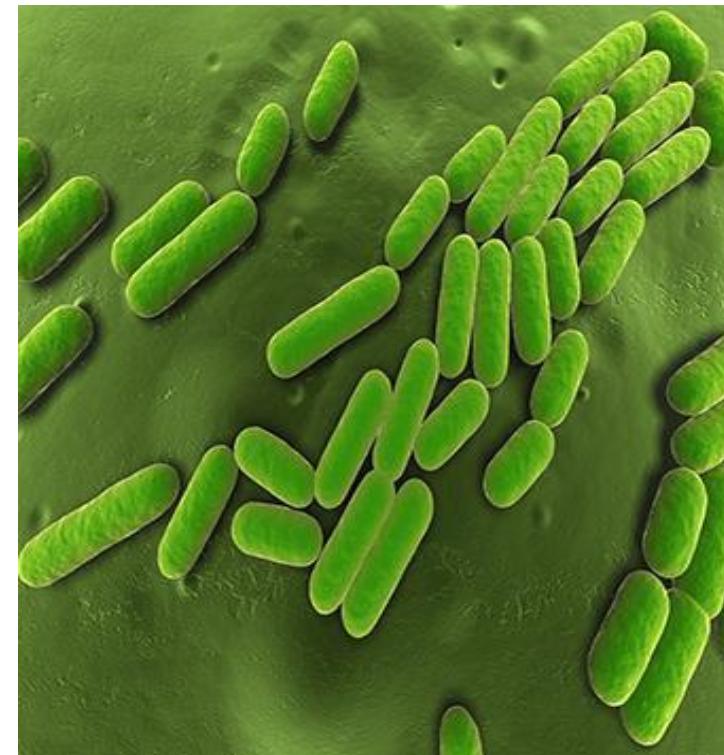


spirillus
(espiroqueta)

Cocos



Espirais



Bacilos

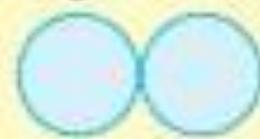
0,5 a 2,0 μm de diâmetro

Cocos

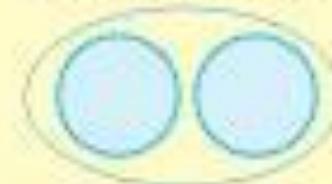
Coco



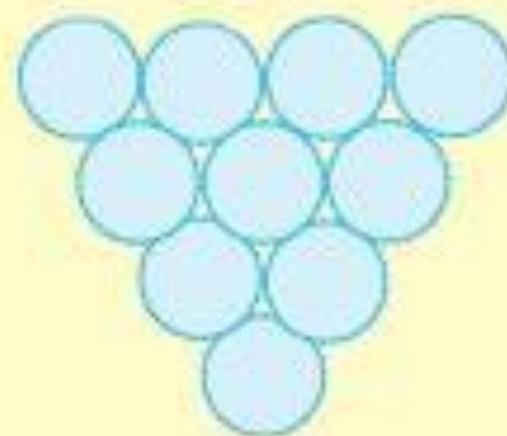
Diplococo



Diplococo
encapsulado
Pneumococo



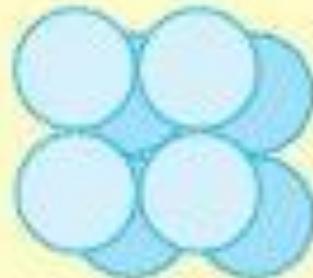
Estafilococo



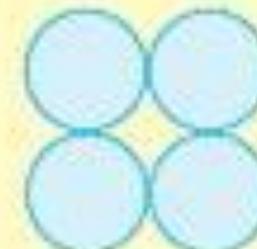
Estreptococo



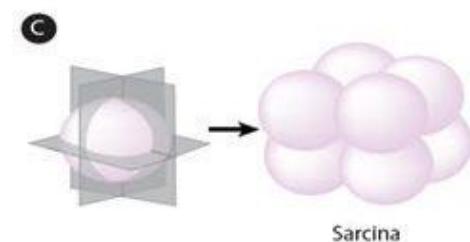
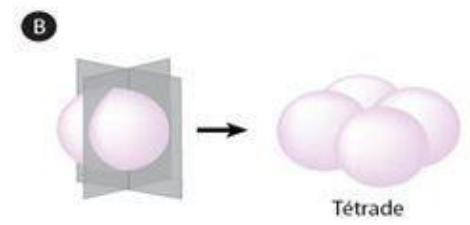
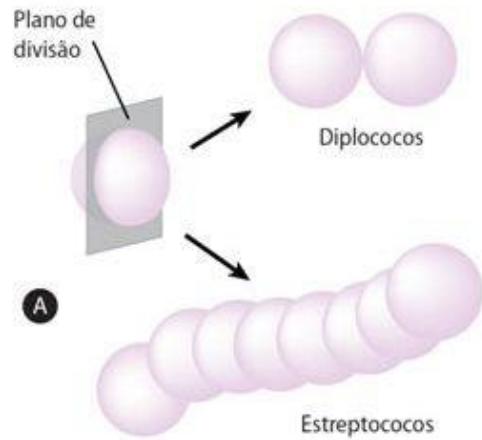
Sarcina



Tétrada



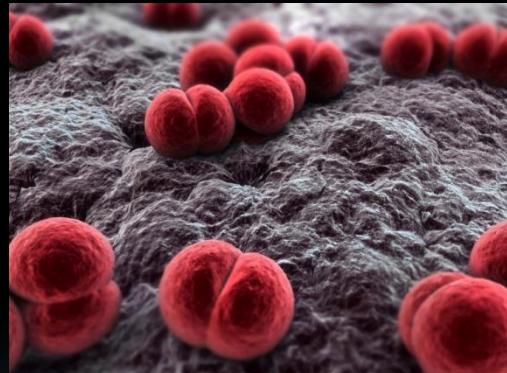
CARACTERÍSTICAS COCOS BACILOS ESPIRAIS OUTRAS FORMAS



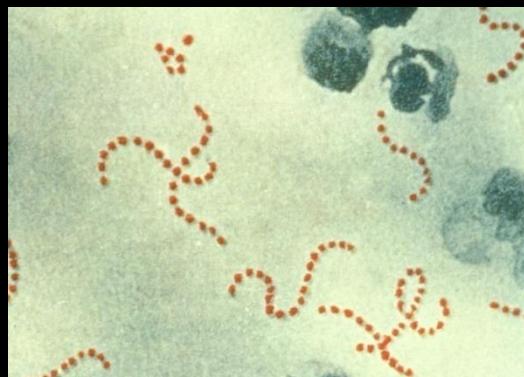
D



CARACTERÍSTICAS COCOS BACILOS ESPIRAIS OUTRAS FORMAS



Neisseria meningitidis



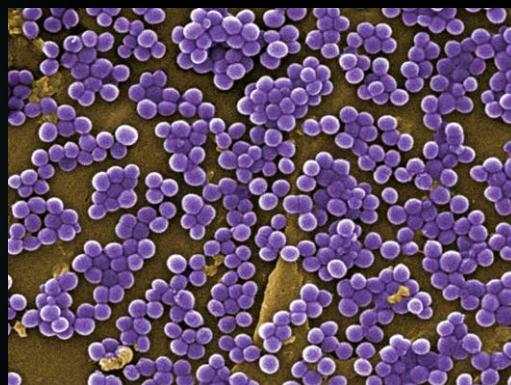
Streptococcus sp.



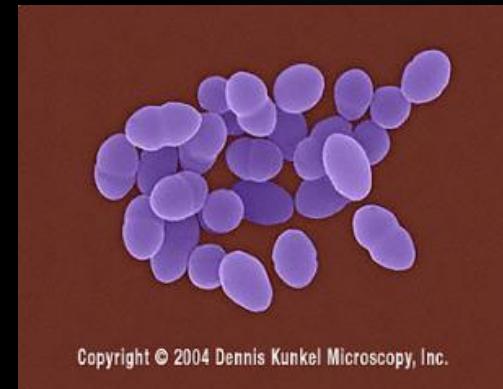
Deinococcus radiodurans



Sarcina sp.



Staphylococcus aureus



Streptococcus pneumoniae

Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

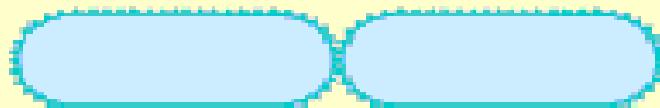
0,2 a 1,0 µm de diâmetro e 2,0 a 10,0 µm de comprimento



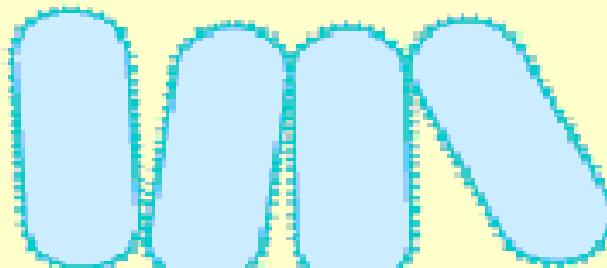
cocobacilos



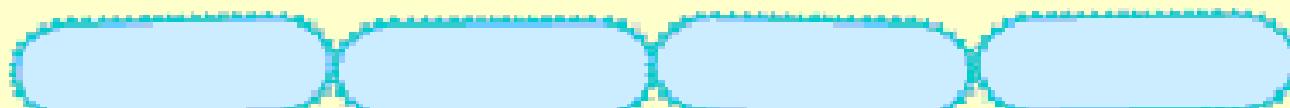
bacilos



diplobacilos



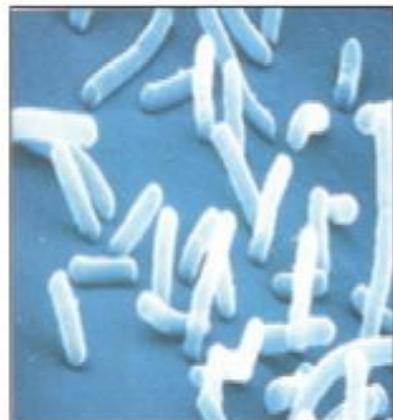
paliçadas



estreptobacilos

CARACTERÍSTICAS COCOS BACILOS ESPIRAIS OUTRAS FORMAS

Bacilo único

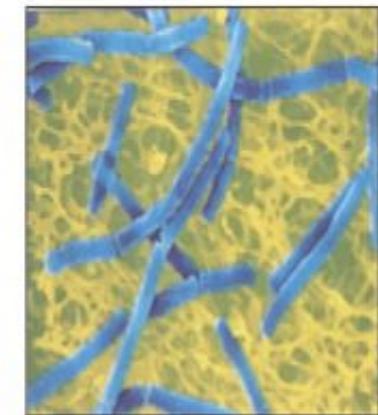


MEV
2µm

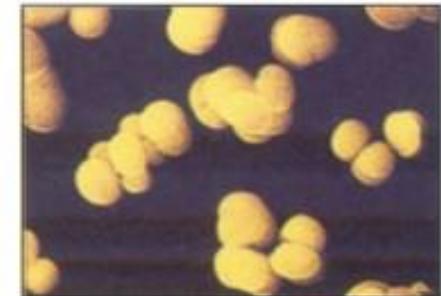
Diplobacilos



Cocobacilos

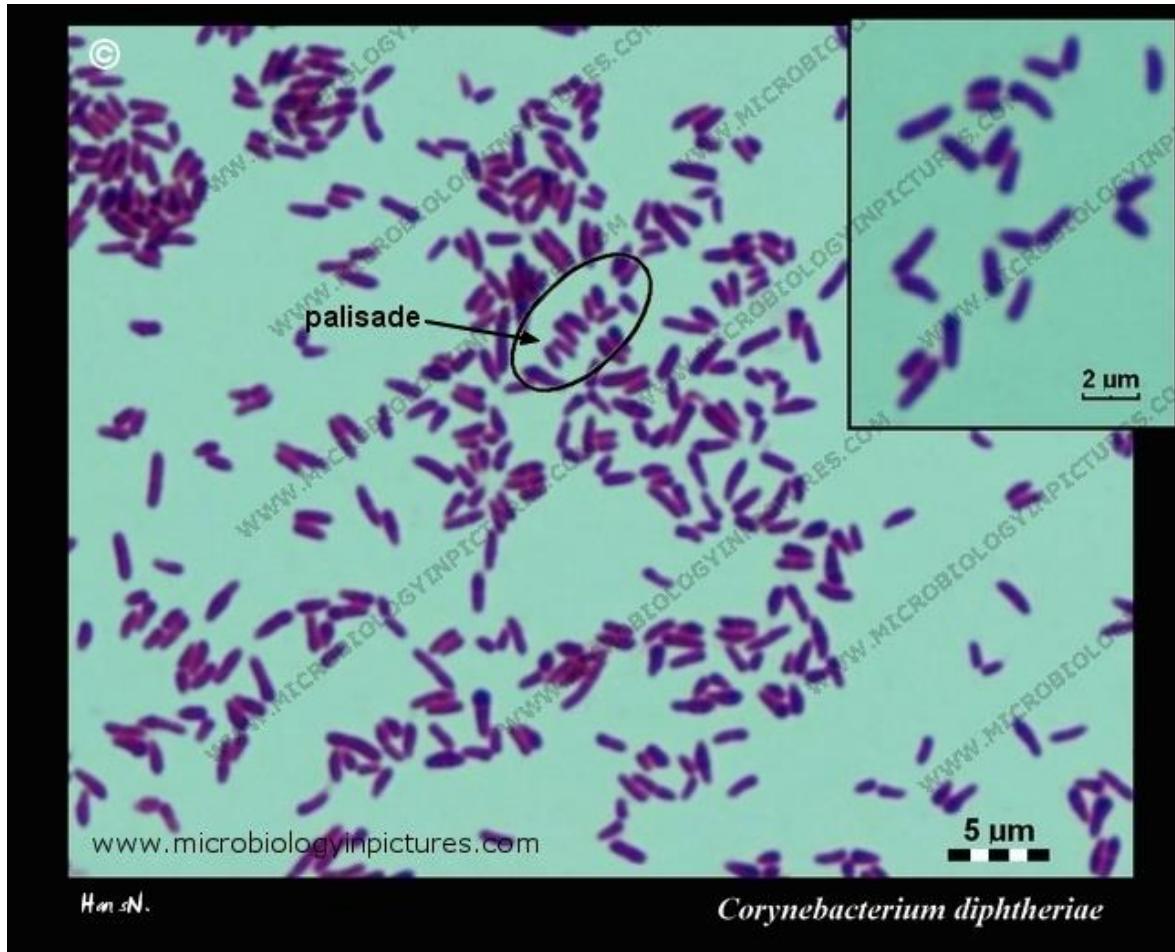


MEV
5µm

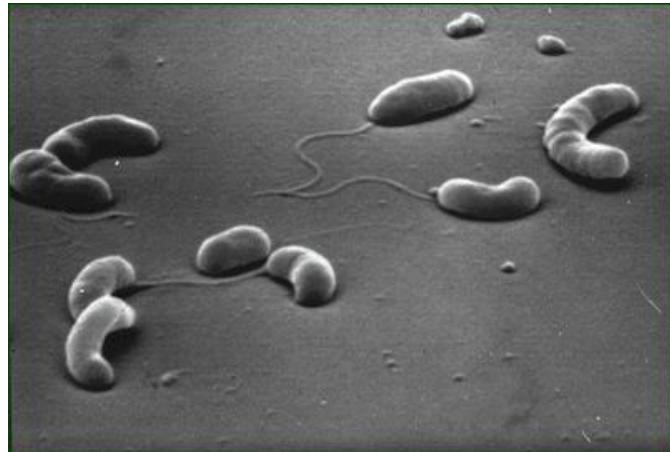


MEV
1µm

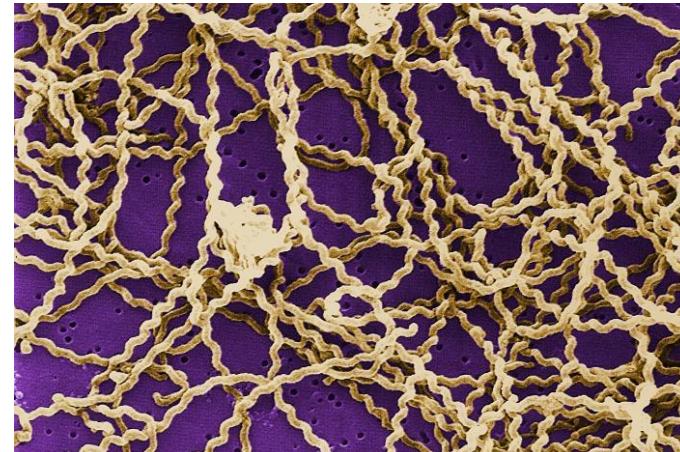
Paliçadas



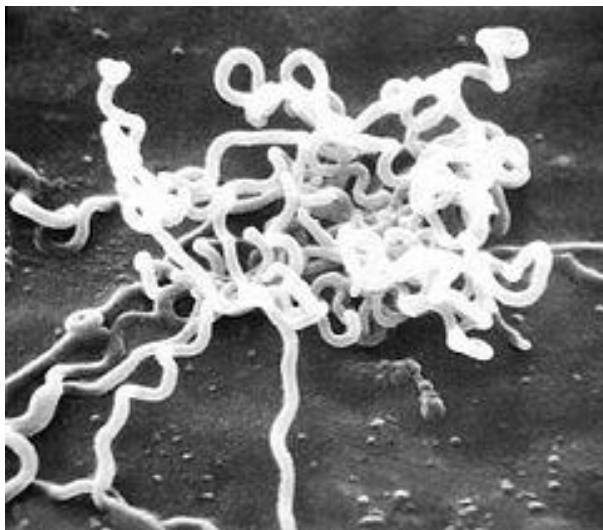
CARACTERÍSTICAS COCOS BACILOS ESPIRAIS OUTRAS FORMAS



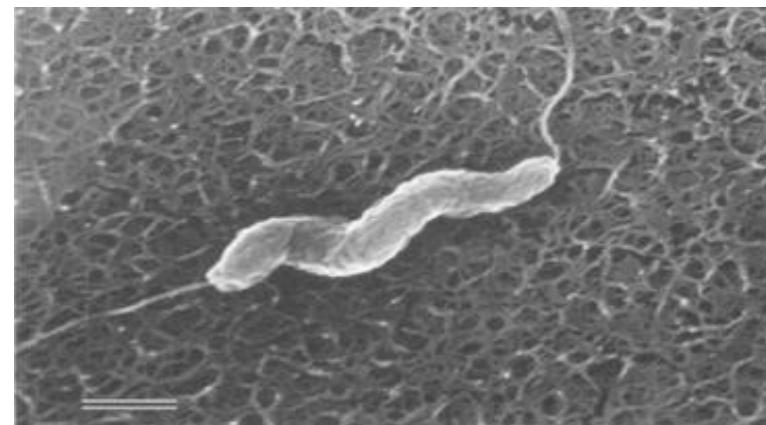
Vibrio cholerae



Leptospira sp.

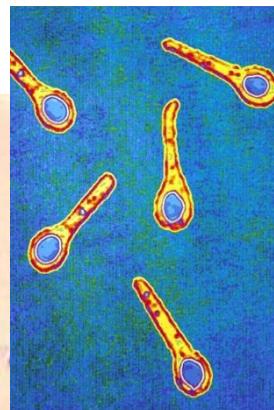
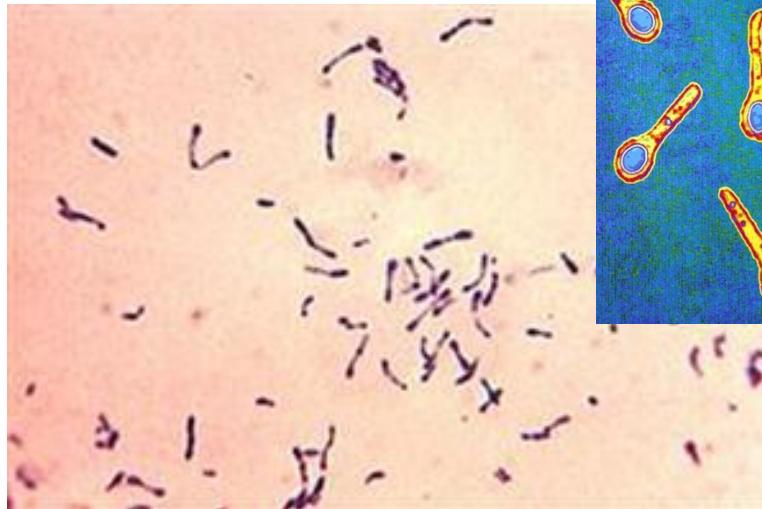


Treponema pallidum



Campylobacter jejuni

Forma de raquete

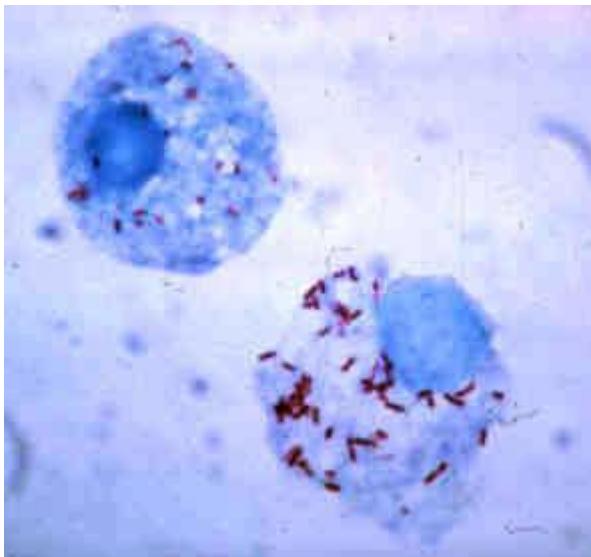


Clostridium tetani



Tétano

Riquétsias



Rickettsia sp.

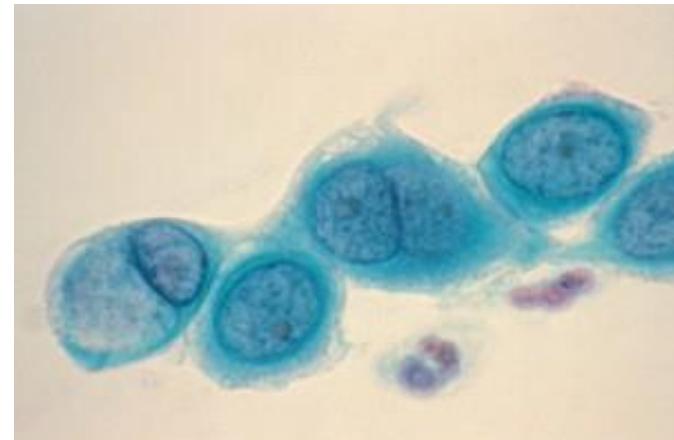
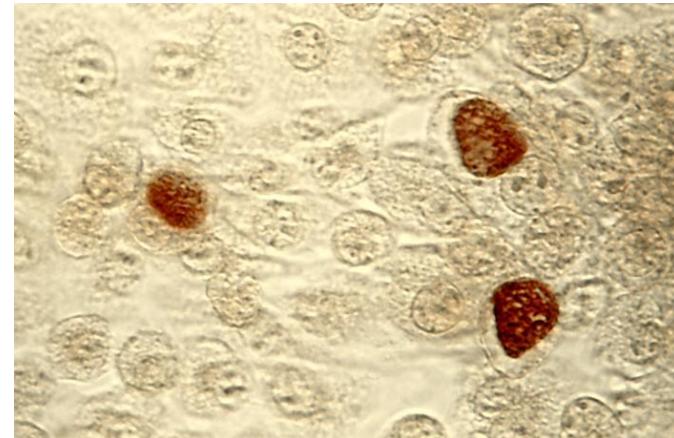


Tifo epidêmico



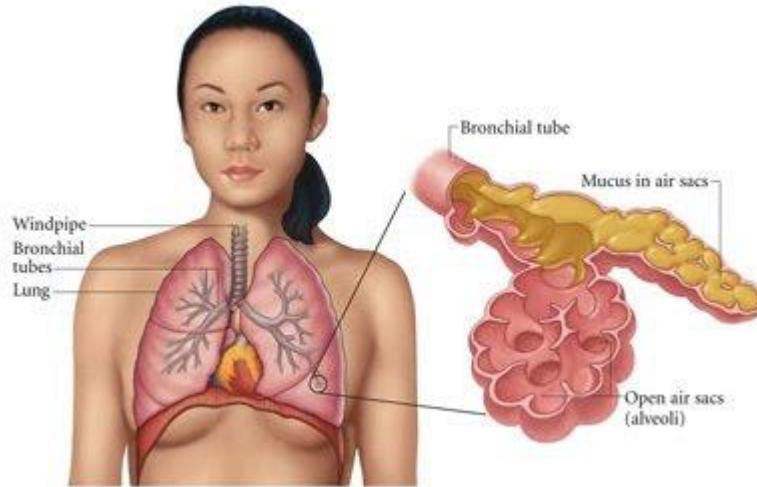


Clamídias

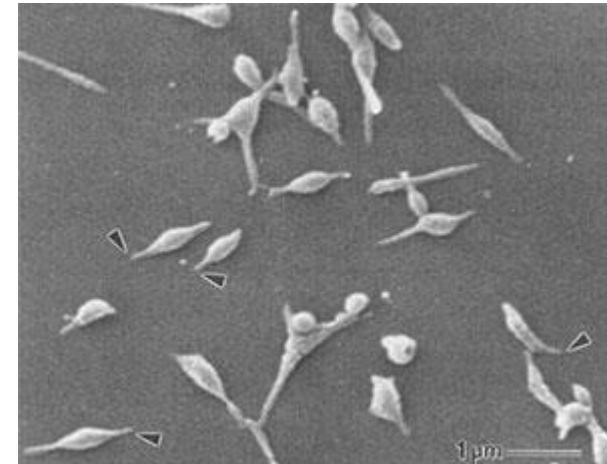


Chlamydia trachomatis

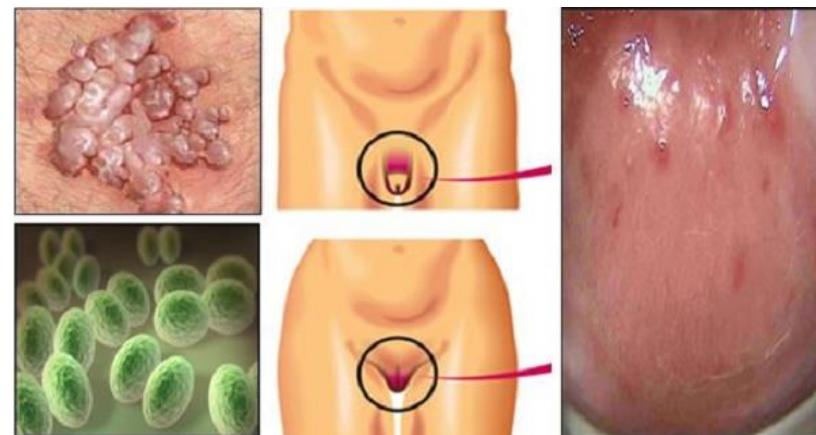
Micoplasmas (s/pc)



Mycoplasma pneumoniae

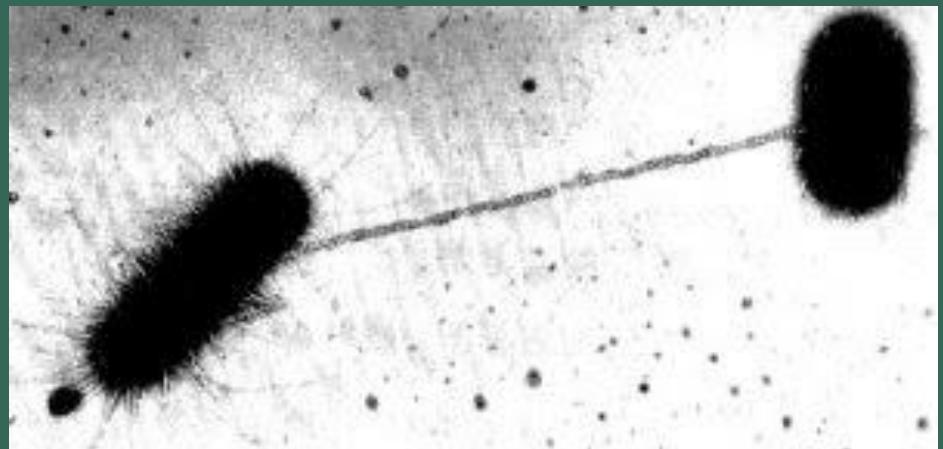


Mycoplasma genitalium



ESTRUTURA BACTERIANA

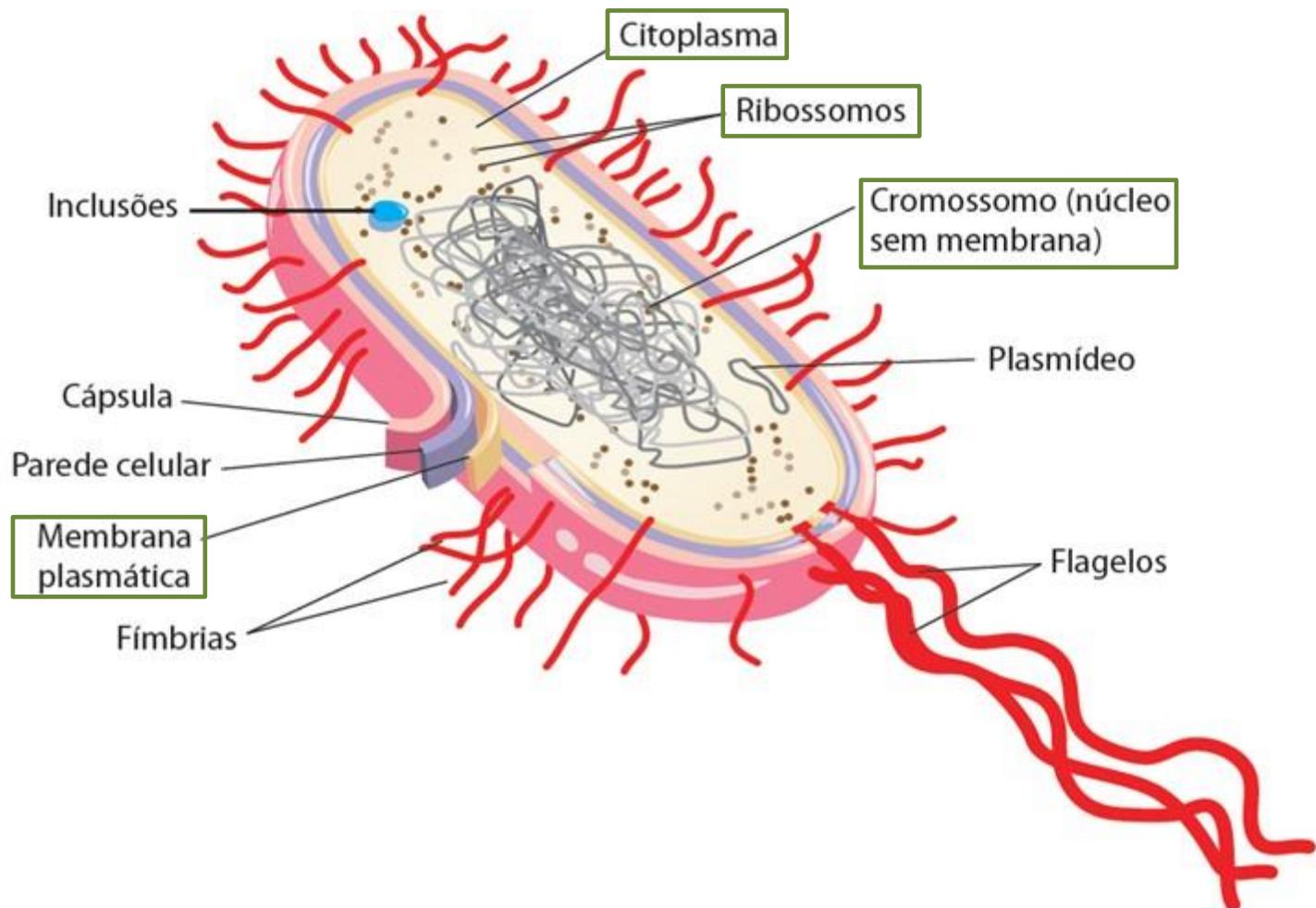
Prof. Ricardo Rocha



CÉLULA BACTERIANA

- Formada por:
 - **Citoplasma (Nucleoide contendo DNA; Ribossomos)**
 - **Membrana Plasmática**
 - **Parede Celular**
 - **Glicocálice**
 - **(Fímbrias – *Pili* – Filamentos Axiais – Flagelos)**

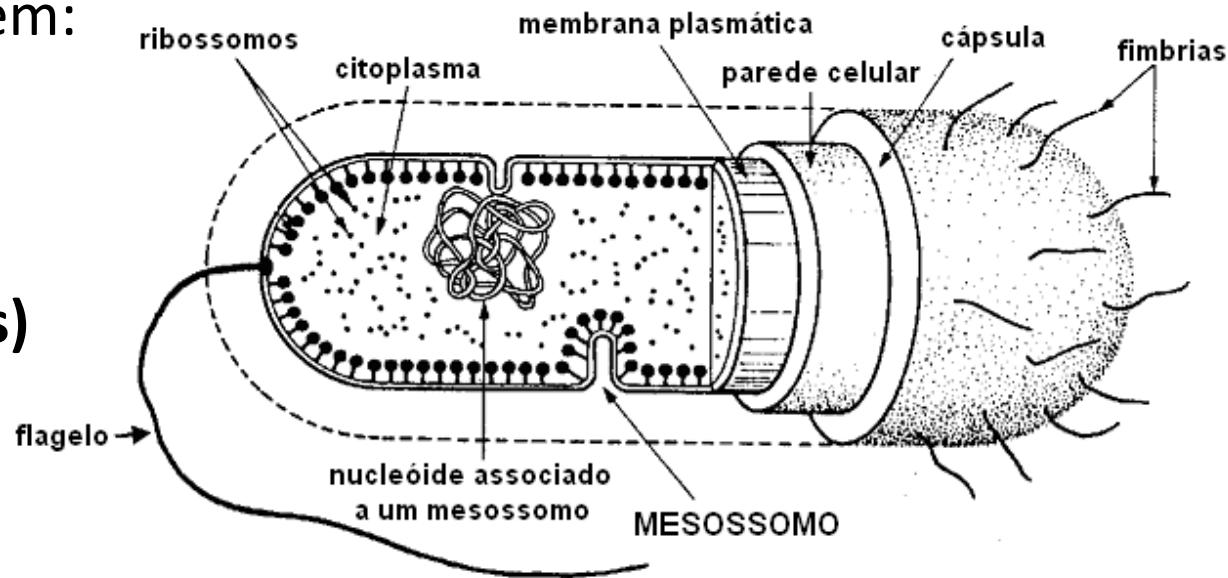
CÉLULA BACTERIANA



CITOPLASMA

- O citoplasma contém:

- DNA cromossomal
- Ribossomos
- Inclusões (Depósitos)
- Proteínas
- Plasmídeos



- Cromossomo bacteriano único de **dupla-fita circular**, região denominada de **nucleoide**

CITOPLASMA

Nucleoide

- Sem envoltório nuclear
- Cromossomo disperso no citoplasma

CITOPLASMA

- **Plasmídios** - pequenas moléculas de DNA de fita dupla circulares:

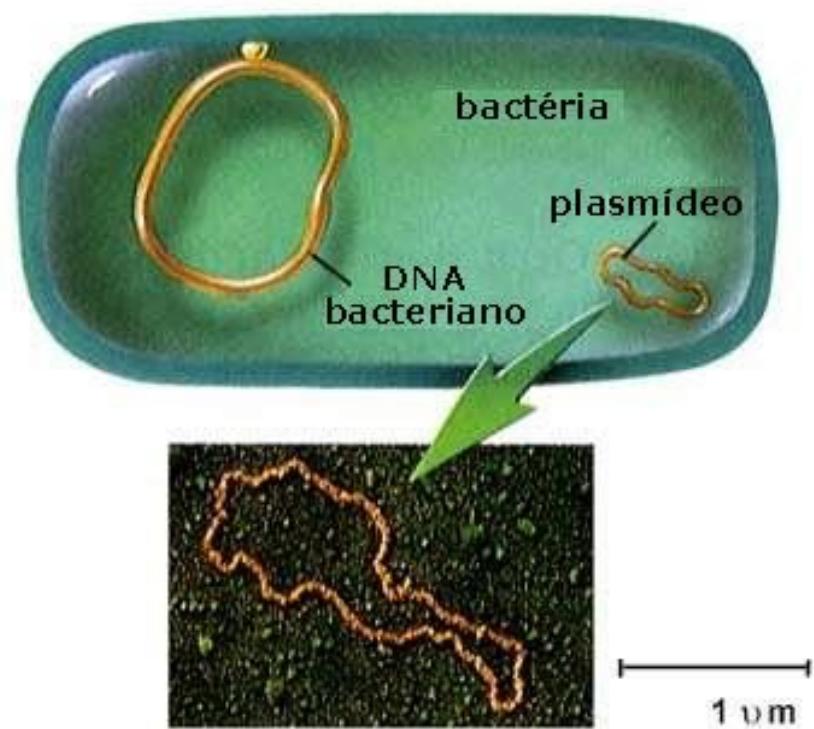
- 5 a 100 genes não cruciais

- **Resistência a antibióticos**

- **Tolerância a metais tóxicos**

- **Produção de toxinas**

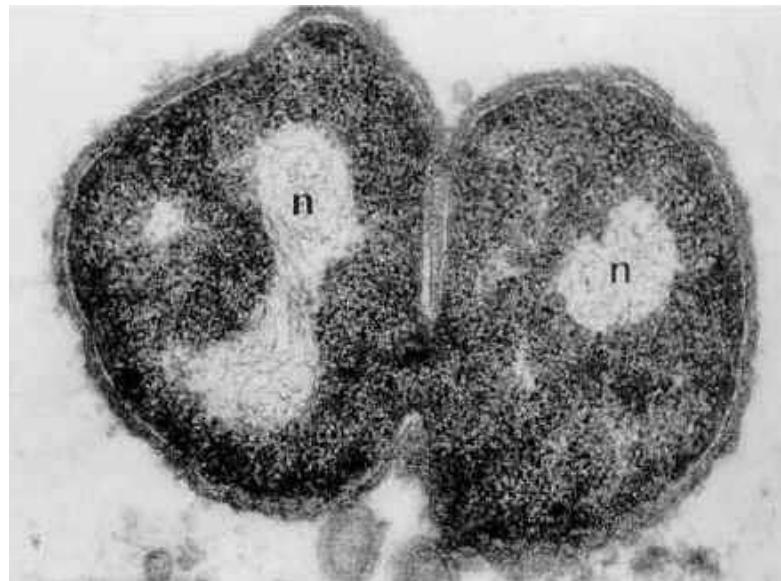
- **Síntese de enzimas**



CITOPLASMA

Ribossomos

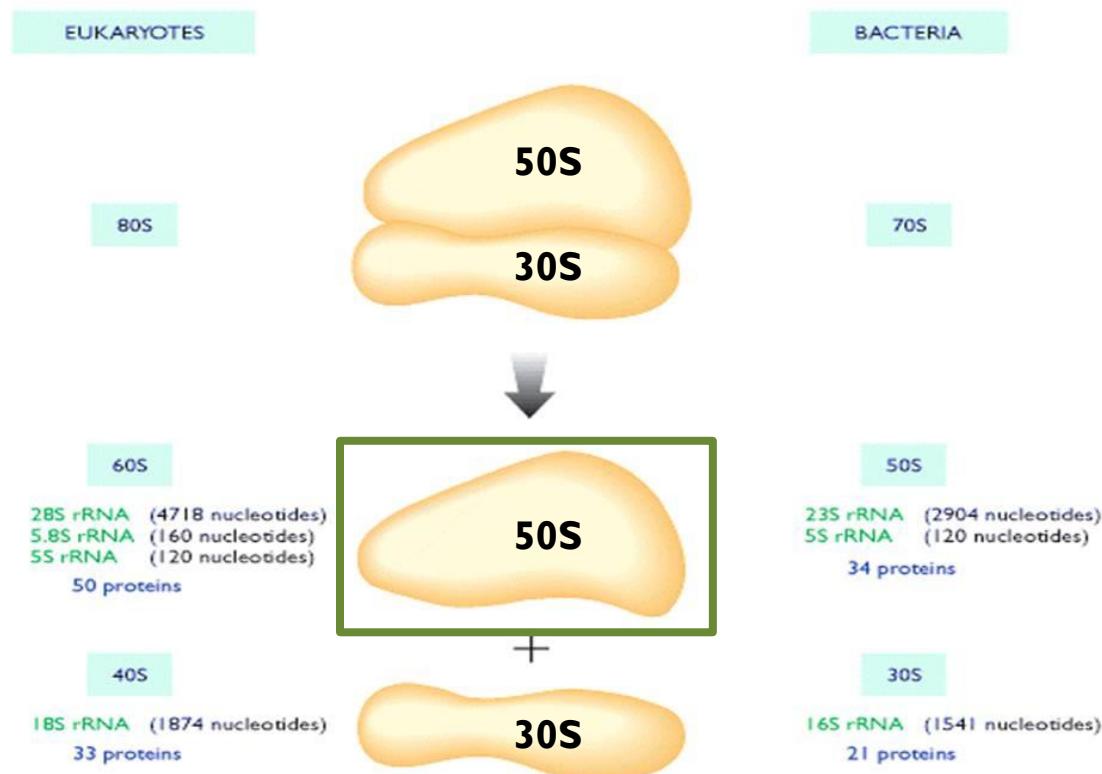
- Locais de síntese proteica
- Aspecto granular ao citoplasma
- Denominados de **Ribossomos 70S**
- Vários antibióticos inibem a síntese proteica nos ribossomos procarióticos



Neisseria gonorrhoeae

CITOPLASMA

Ex. Eritromicina e Cloranfenicol



CITOPLASMA

Inclusões

- Depósitos de reservas
- Algumas são limitadas a um número pequeno de bactérias

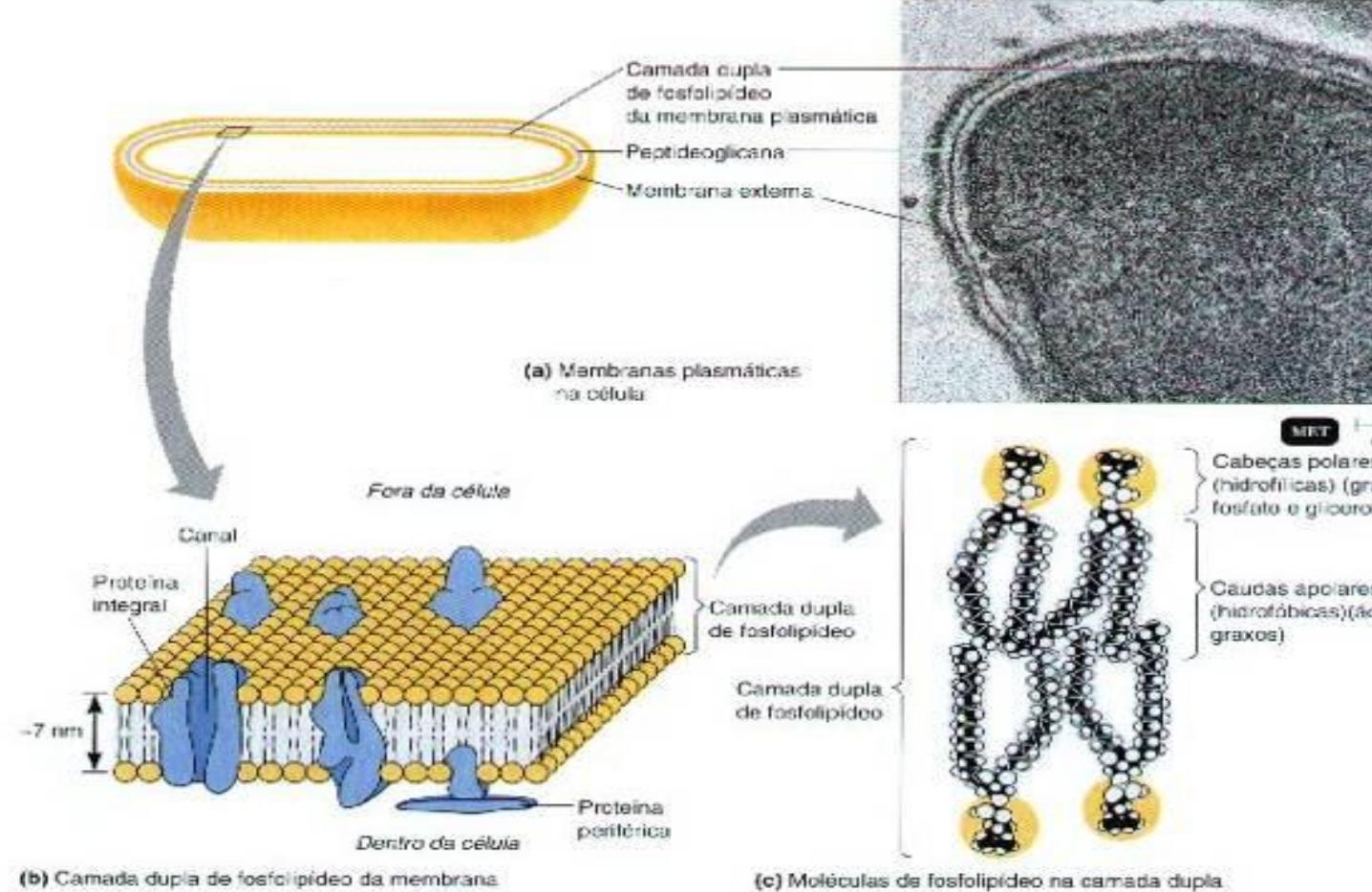
- Grânulos metacromáticos	- Carboxissomos
- Grânulos polissacarídeos	- Vacúolos de gás
- Inclusões lipídicas	- Magnetossomos
- Grânulos de enxofre	

MEMBRANA CITOPLASMÁTICA

Funções

- Barreira seletiva (**permeabilidade seletiva**)
- Entrada e liberação de substâncias (Água, íons, proteínas, vitaminas, aminoácidos, lipídios)
- Estrutura fina entre o citoplasma e a parede celular
- Principalmente de fosfolipídios e proteínas (menor rigidez)

MEMBRANA CITOPLASMÁTICA

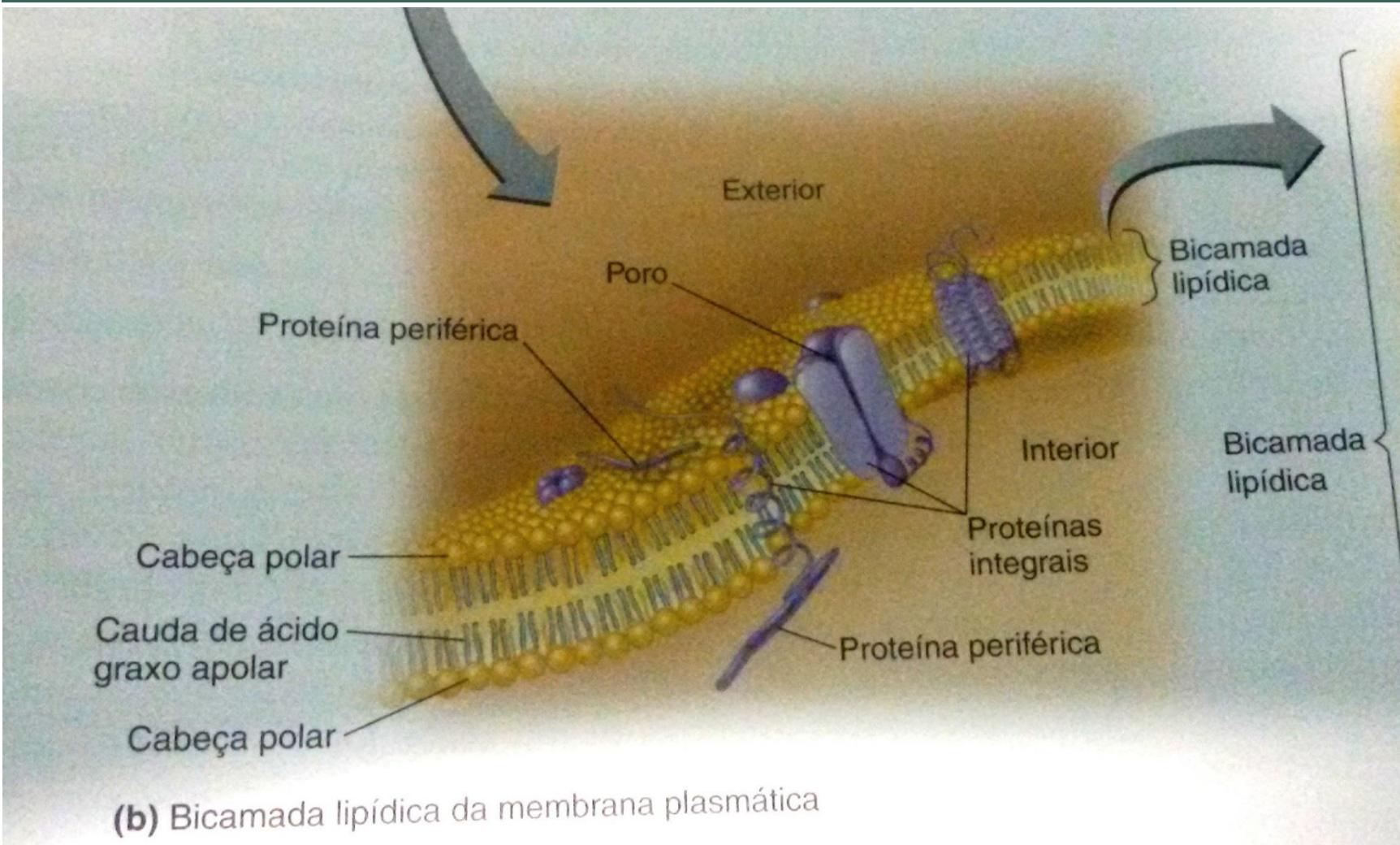


MEMBRANA CITOPLASMÁTICA

Proteínas

- Proteínas periféricas
- Proteínas integrais
- Proteínas transmembrana (integrais que penetram completamente a membrana)

MEMBRANA CITOPLASMÁTICA



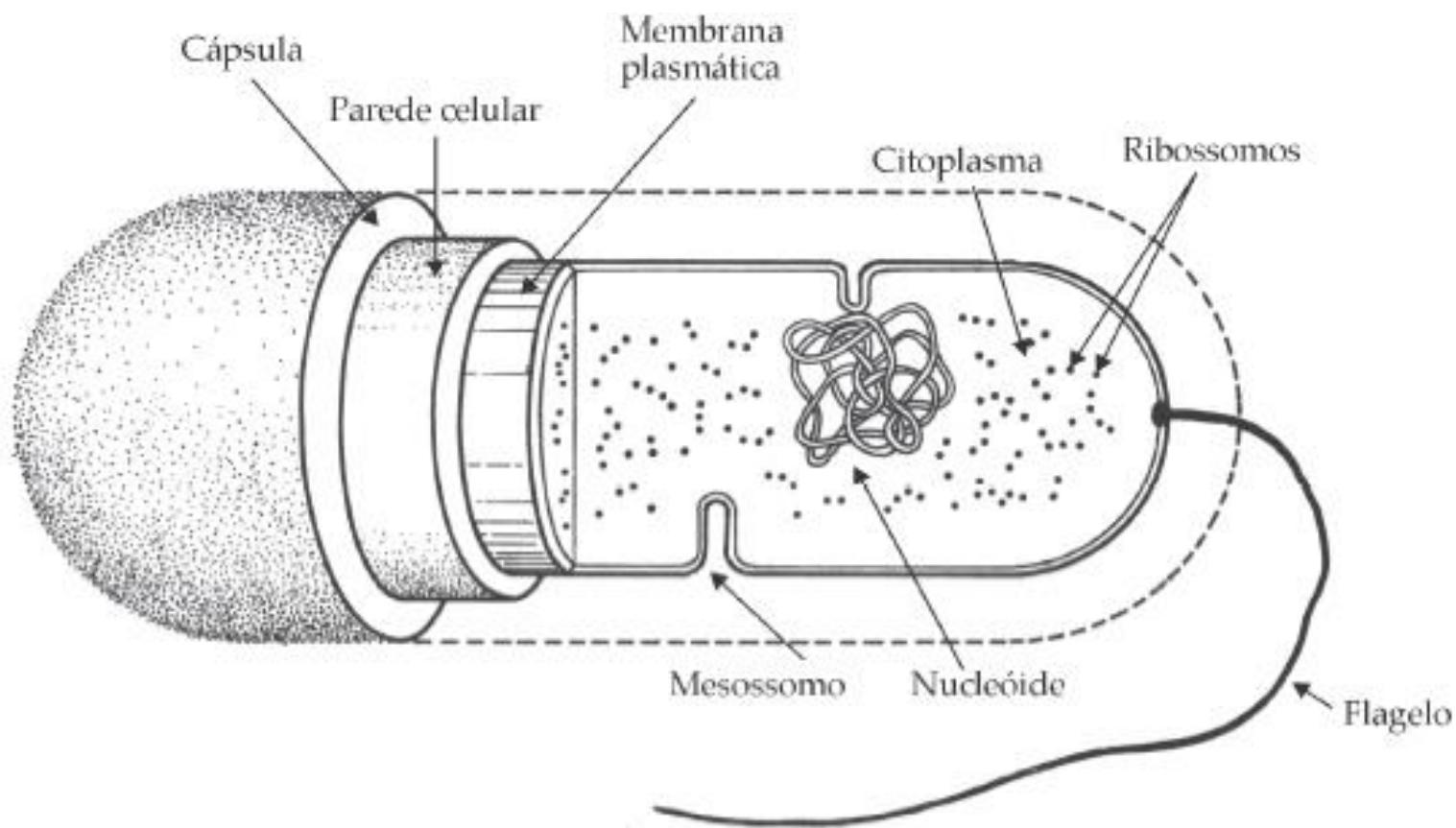
PAREDE CELULAR

- Estrutura complexa e semirrígida

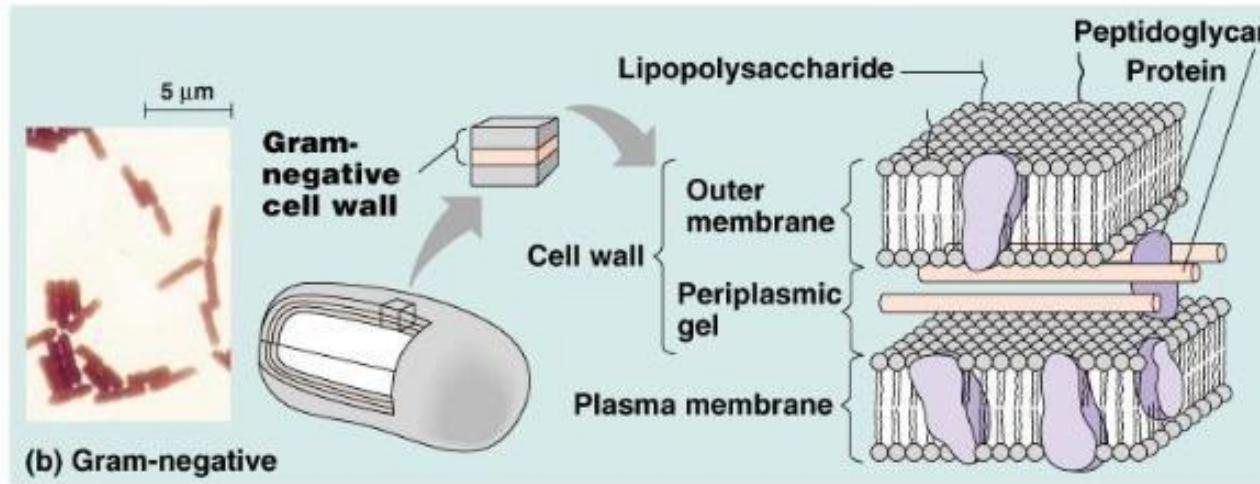
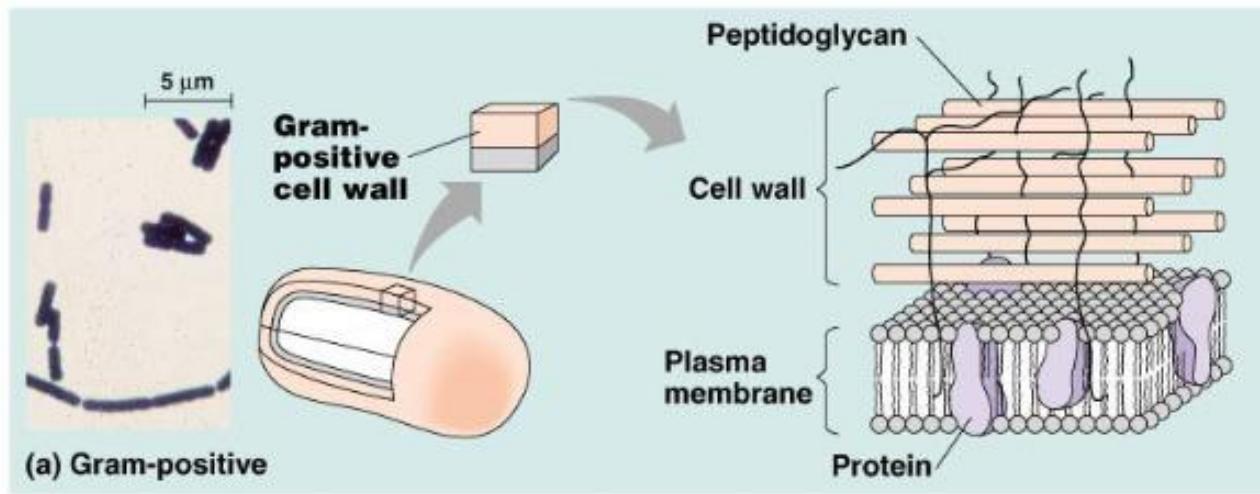
Funções

- Responsável pela forma da célula e proteção da membrana
- Previne a ruptura das células bacterianas (pressão osmótica)
- Ponto de ancoragem para os flagelos
- Clinicamente, contribui na capacidade de causarem doenças e como local de ação de alguns antibióticos

PAREDE CELULAR



PAREDE CELULAR

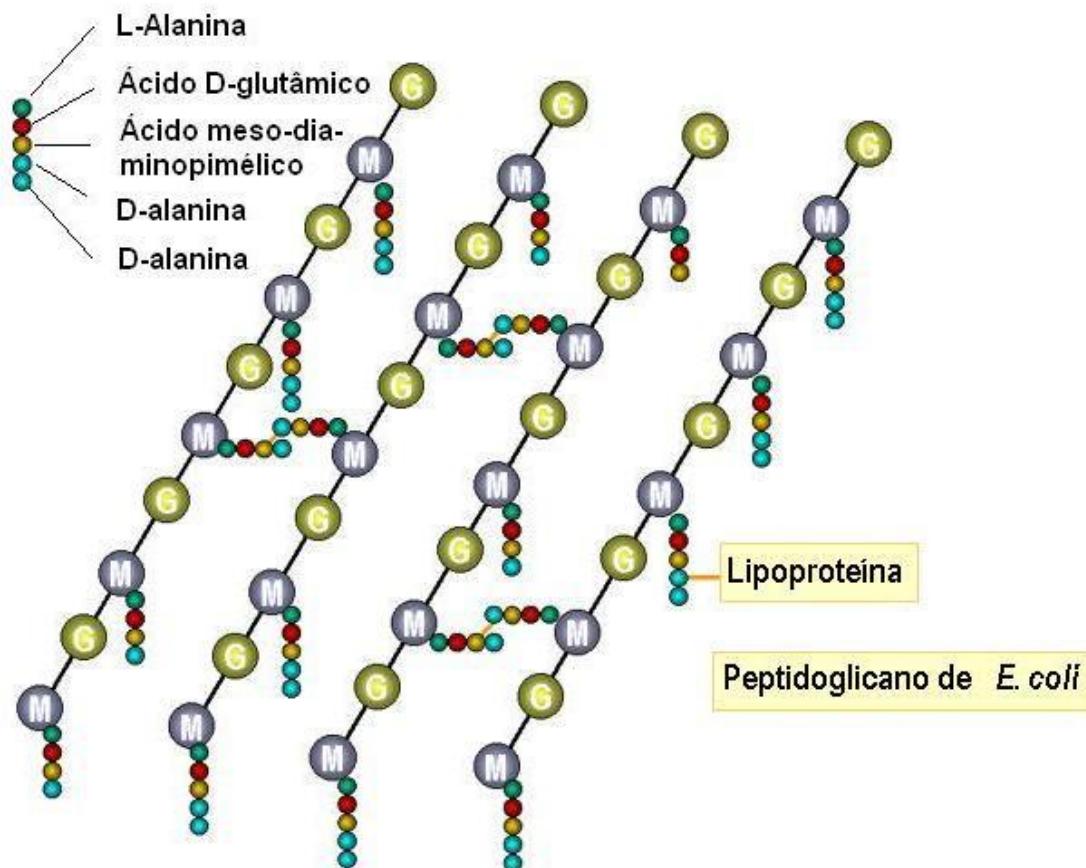


PAREDE CELULAR

Composição e Características

- Camada de peptidioglicana (ou mureína), polímero de açúcares e aminoácidos
- Constituída de N-acetilglicosamina (NAM) e ácido N-acetilmurâmico (NAG), relacionados à glicose
- Moléculas alternadas de NAM e NAG ligadas em filas de açucares, formando um “exoesqueleto”
- Penicilina interfere nas ligações cruzadas, resultando na lise

PAREDE CELULAR



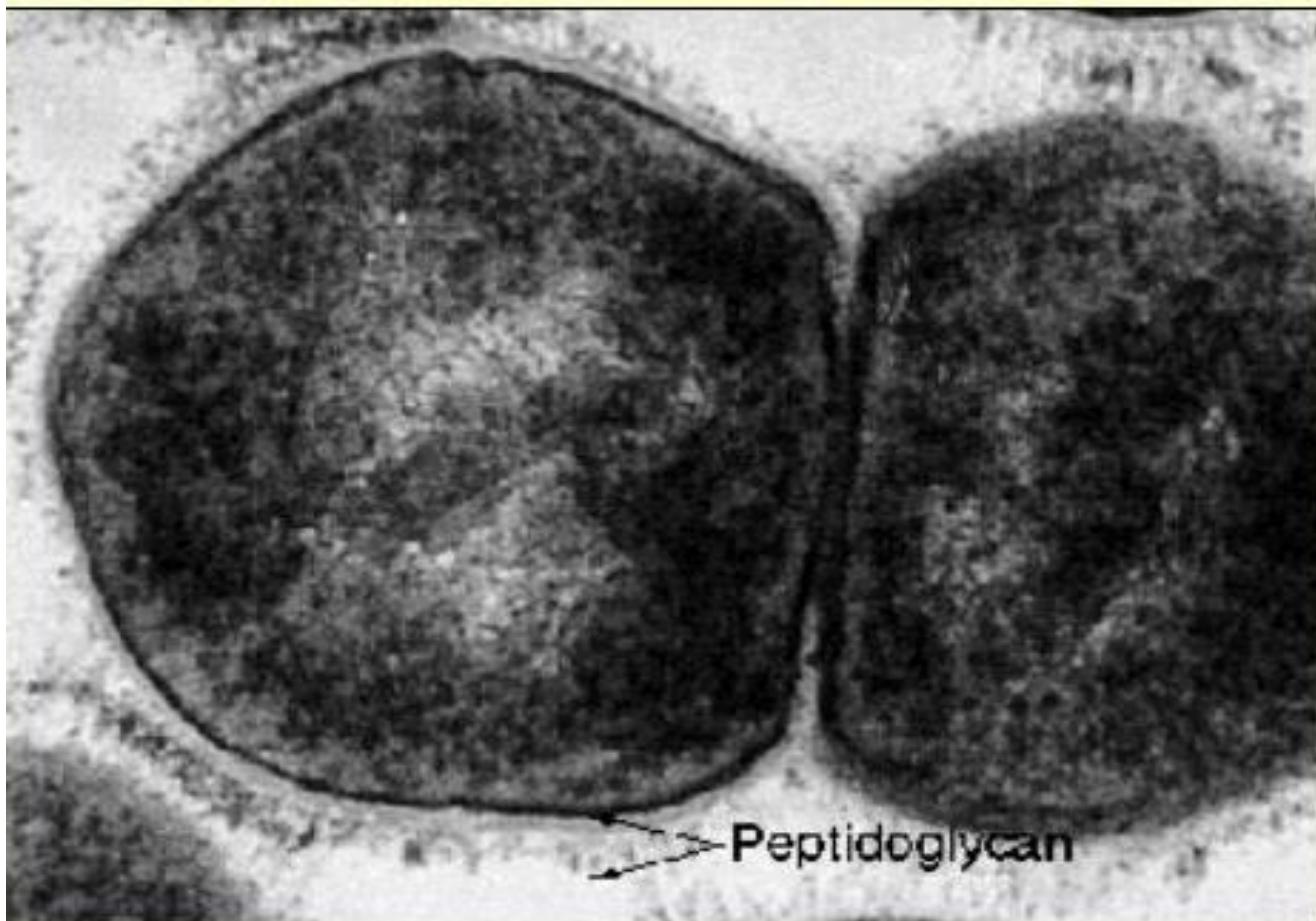
PAREDE CELULAR

Bactérias Gram Positivas

- Muitas camadas de peptidioglicana (estrutura espessa e rígida)
- Ácidos teicoicos (álcool+fosfato)
- Regulam os movimentos de cátions
- Crescimento celular (impedindo a ruptura da parede)- Regulação Autolisinas
- Sítio de ligação ao epitélio (bactérias patogênicas- *S. pyogenes*)
- Fornecem especificidade antigênica da parede (identific. Sorológica)

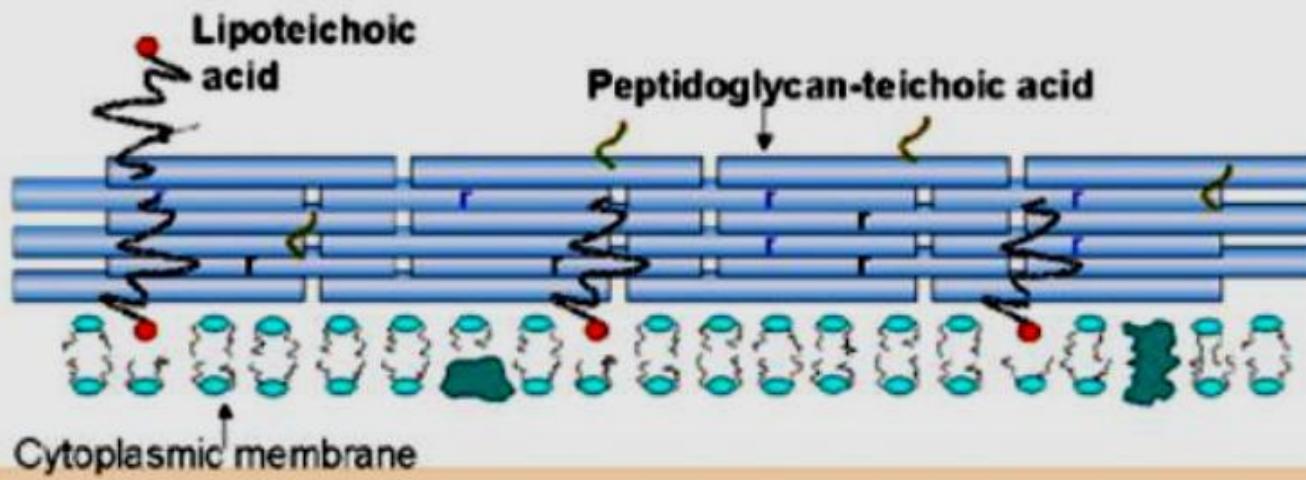
PAREDE CELULAR

Parede celular (Gram-positivos)



PAREDE CELULAR

Gram Positive Cell Envelope



Cytoplasm

PAREDE CELULAR

Bactérias Gram Negativas

- Camada fina de peptidioglicana+membrana externa
- Ligada a lipoproteínas na membrana externa
- Não contém ácidos teicoicos
- Mais suscetíveis ao rompimento mecânico
- **Membrana externa:**
 - Lipopolissacarídeos (integridade estrutural, proteção contra ataques químicos e funciona como endotoxina)
 - Lipoproteínas (adesão da peptidioglicana)
 - Fosfolipídeos

PAREDE CELULAR

Bactérias Gram Negativas

Impede entrada:

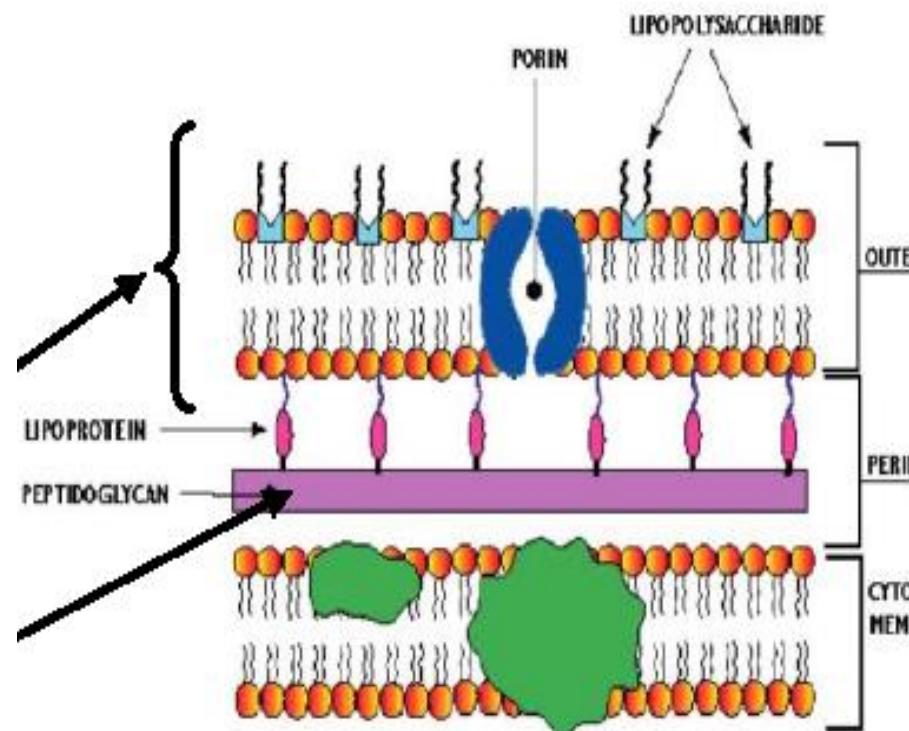
- **Antibióticos: β -lactamase (penicilinas)**
- **Detergentes**
- **Enzimas digestivas**

LPS

Polissacarídeo O

- **Carga positiva**
- **Evasão fagocitose**
- **Complemento**

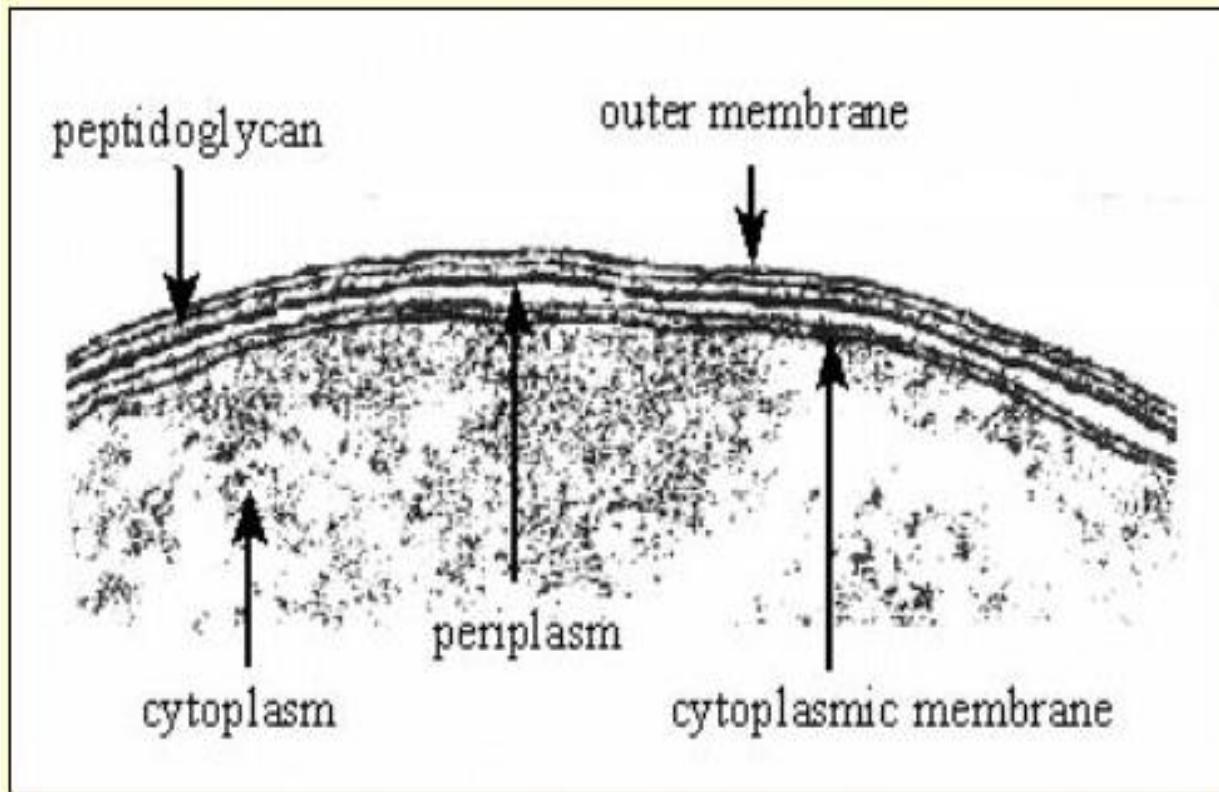
Lipídeo A (tóxica) (endotoxina)



PAREDE CELULAR

Bactérias Gram Negativas

Parede celular (Gram-negativos)



PAREDE CELULAR

Remoção da parede celular (Formas L)

Atuação de antibióticos de parede celular (lisozimas e penicilinas)

Protoplastos (Bactérias gram positivas)

- **Formas esféricas**
- **Perdem a parede celular totalmente**

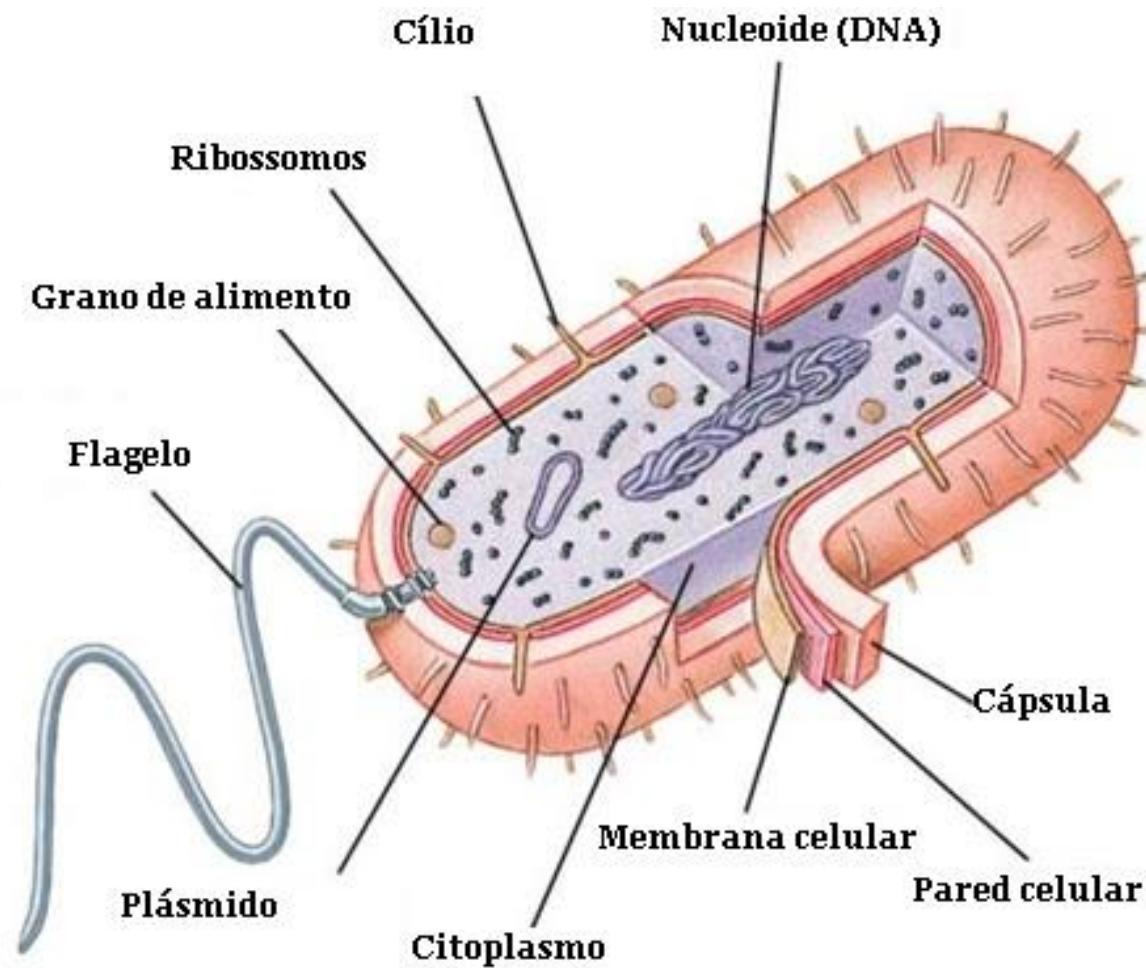
Esferoplastos (Bactérias gram negativas)

- **Formas esféricas**
 - **Perdem parcialmente a parede celular**
- Voltam a sintetizar a parede (quando isoladas ou na divisão)**

GLICOCÁLICE

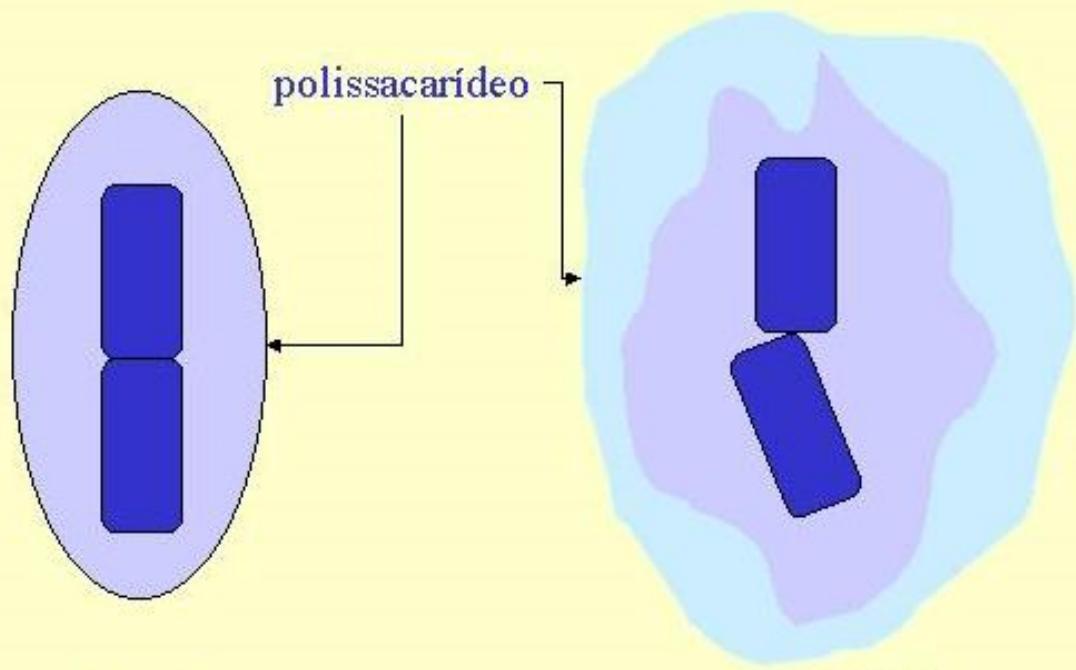
- Substâncias que envolvem as células (revestimento de açúcar)
- Maioria formadas por polímeros de polissacarídeos
- **Cápsula** – organizada e firmemente aderida a PC
- **Camada viscosa** – não organizada e fracamente aderida

GLICOCÁLICE



GLICOCÁLICE

Cápsula e camada limosa



cápsula

camada limosa

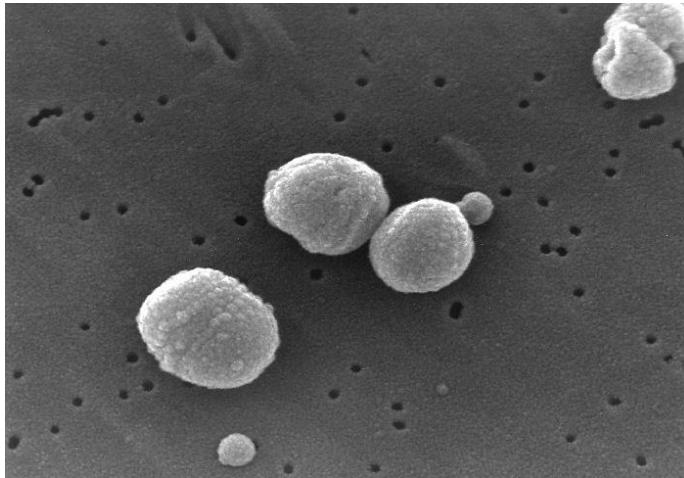
GLICOCÁLICE

Funções

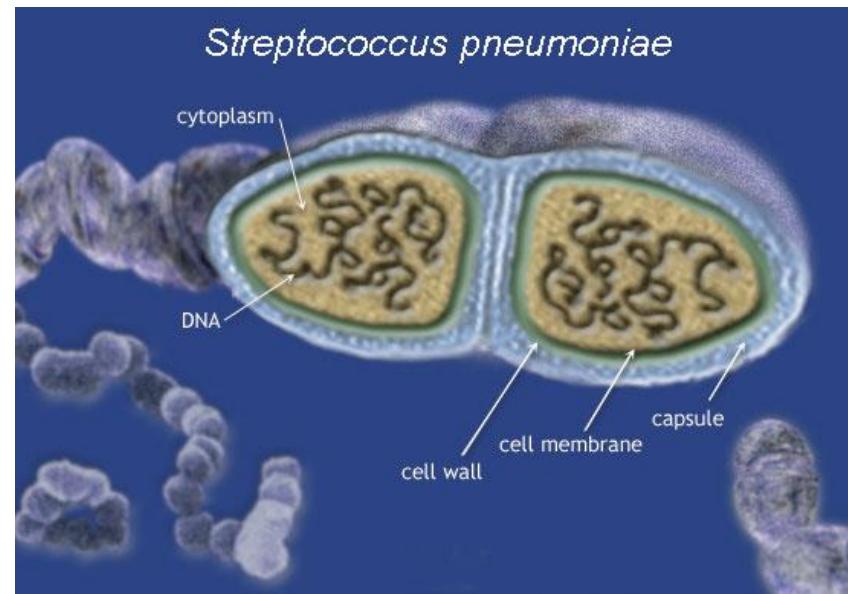
- Aderência (formação de biofilmes)
Formação das cáries- Ferm. sacarose (*S. mutans*)
Cateteres intravenosos (*S. epidermidis*) bacteremia e sépsis
- Contribuem na virulência bacteriana (capacidade invasiva)
- Protegem da fagocitose (falta de receptores específicos nos fagócitos)
- Biofilmes
- Resistência microbiana à antibióticos
- Proteção dessecação do meio
- Fonte de nutrição

GLICOCÁLICE

Ex. *Streptococcus pneumoniae*



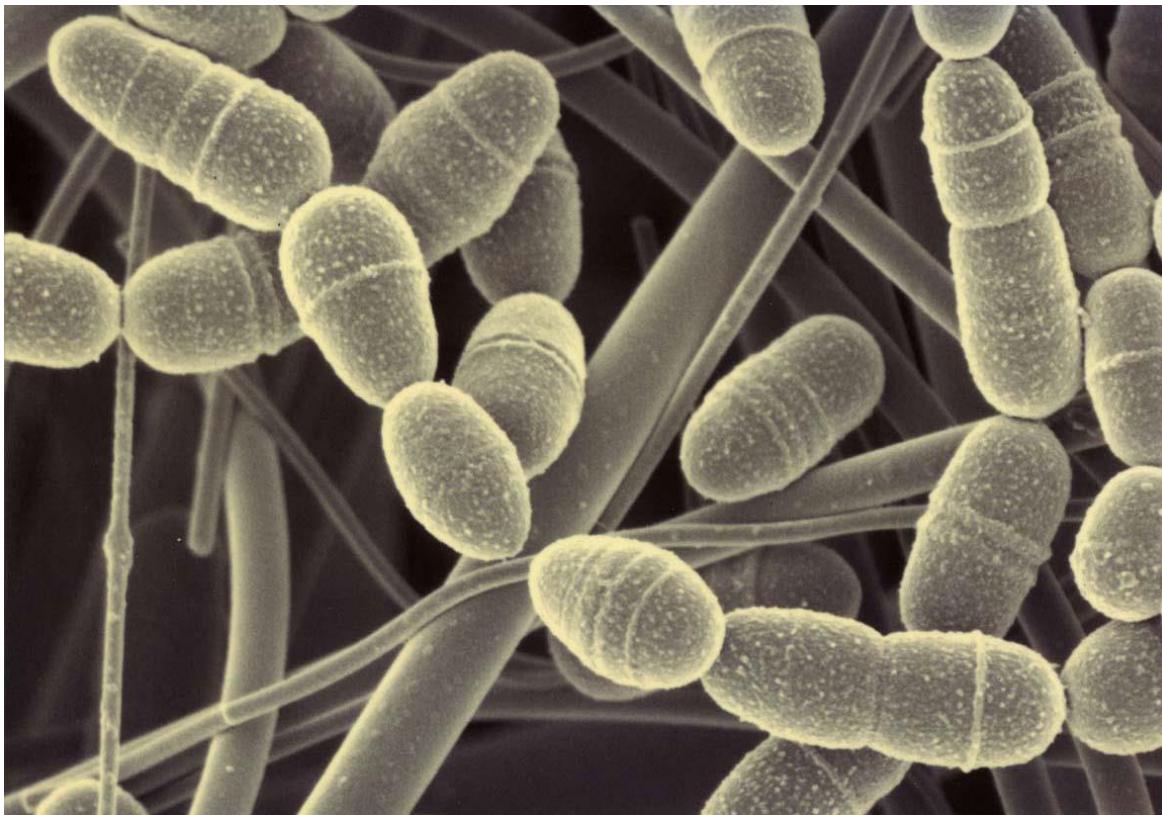
Neisseria meningitidis
Klebsiella pneumoniae
H. influenzae



Cápsula polissacarídica

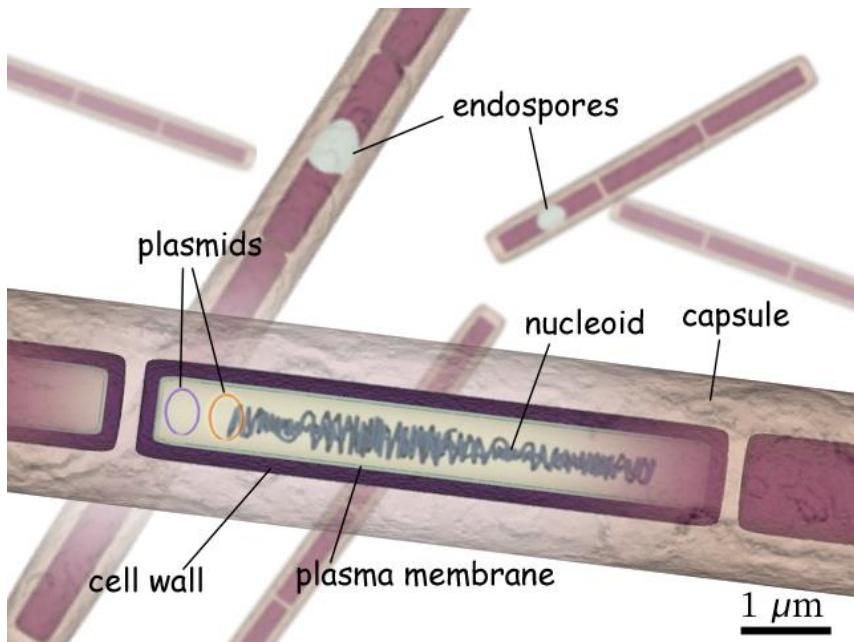
GLICOCÁLICE

Ex. *Streptococcus mutans* - capsula limosa (biolfilme)



GLICOCÁLICE

Ex. *Bacillus anthracis*



Cápsula de proteína

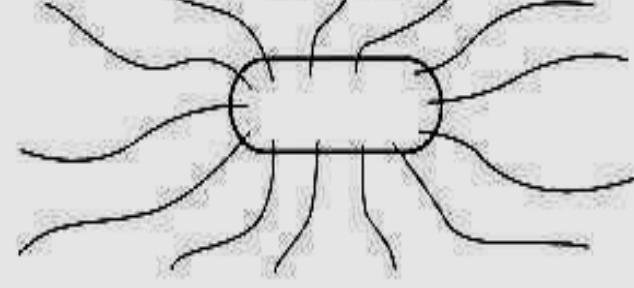
FLAGELOS

- Longos apêndices filamentosos (flagelinas)
- Responsáveis pela locomoção
- **Bactérias Atríqueas** – sem flagelos (em formato de cocos)
- **Flagelos Peritríqueos** – distribuídos em toda a células
- **Flagelos Polares** – em um ou ambos os polos da células

FLAGELOS

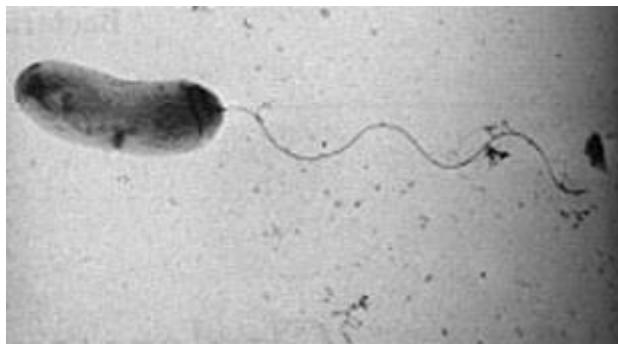
- Flagelos Polares podem ser:
 - **Monotríqueos** (um único flagelo em um polo)
 - **Lofotríqueos** (tufo de flagelos na extremidade)
 - **Anfítríqueos** (flagelos em ambas as extremidades)

FLAGELOS

Structure	Flagella Type	Example
	Monotrichous	<i>Vibrio cholerae</i>
	Lophotrichous	<i>Bartonella bacilliformis</i>
	Amphitrichous	<i>Spinnulum serpens</i>
	Peritrichous	<i>Escherichia coli</i>

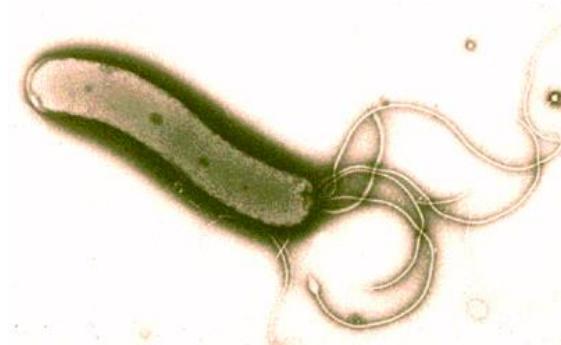
FLAGELOS

Monotríqueo



Vibreo cholerae

Lofotríqueo



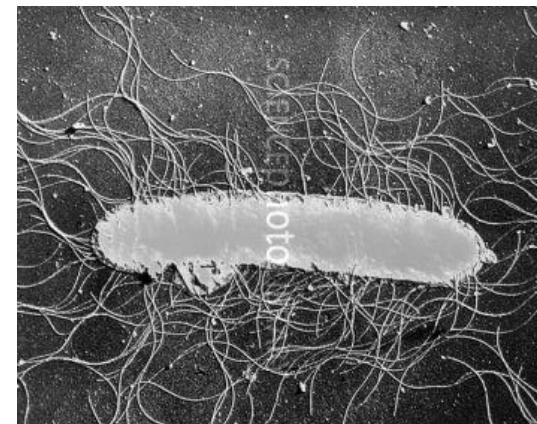
Helicobacter pylori

Anfitríqueo



Spirillum volutans

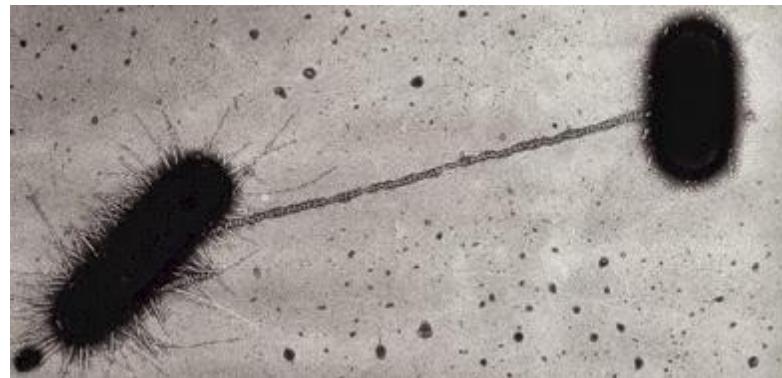
Peritríqueo



Proteus mirabilis

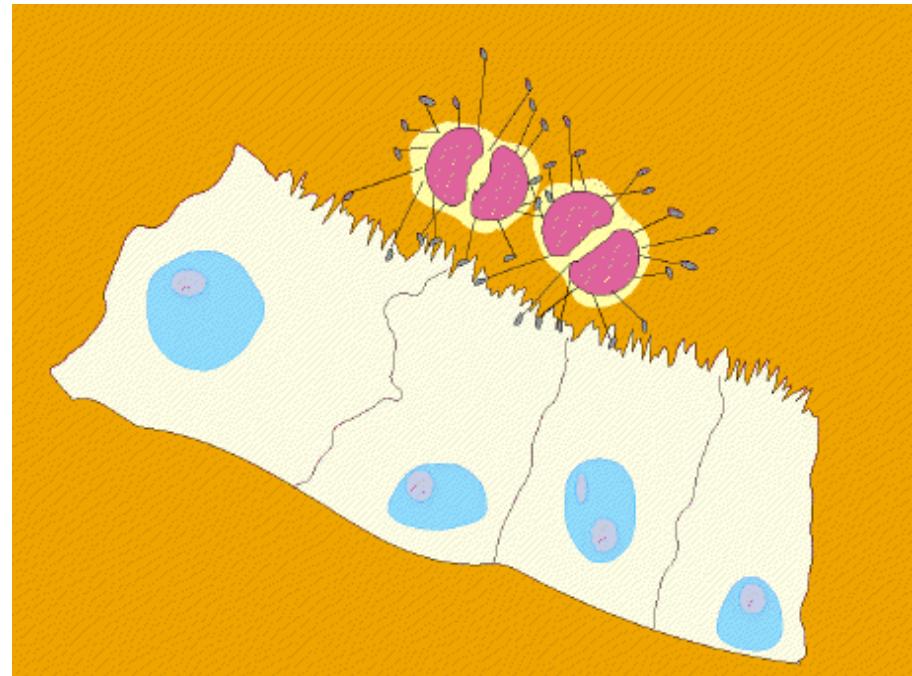
FÍMBRIAS E PILI

- Semelhantes a pelos (proteína *pilina*)
- Adesão a outras bactérias ou hospedeiro ,
- Fator de adesão (adesinas)
- Transferência de DNA (*Pili F*) – Pili sexual (conjugação bacteriana)

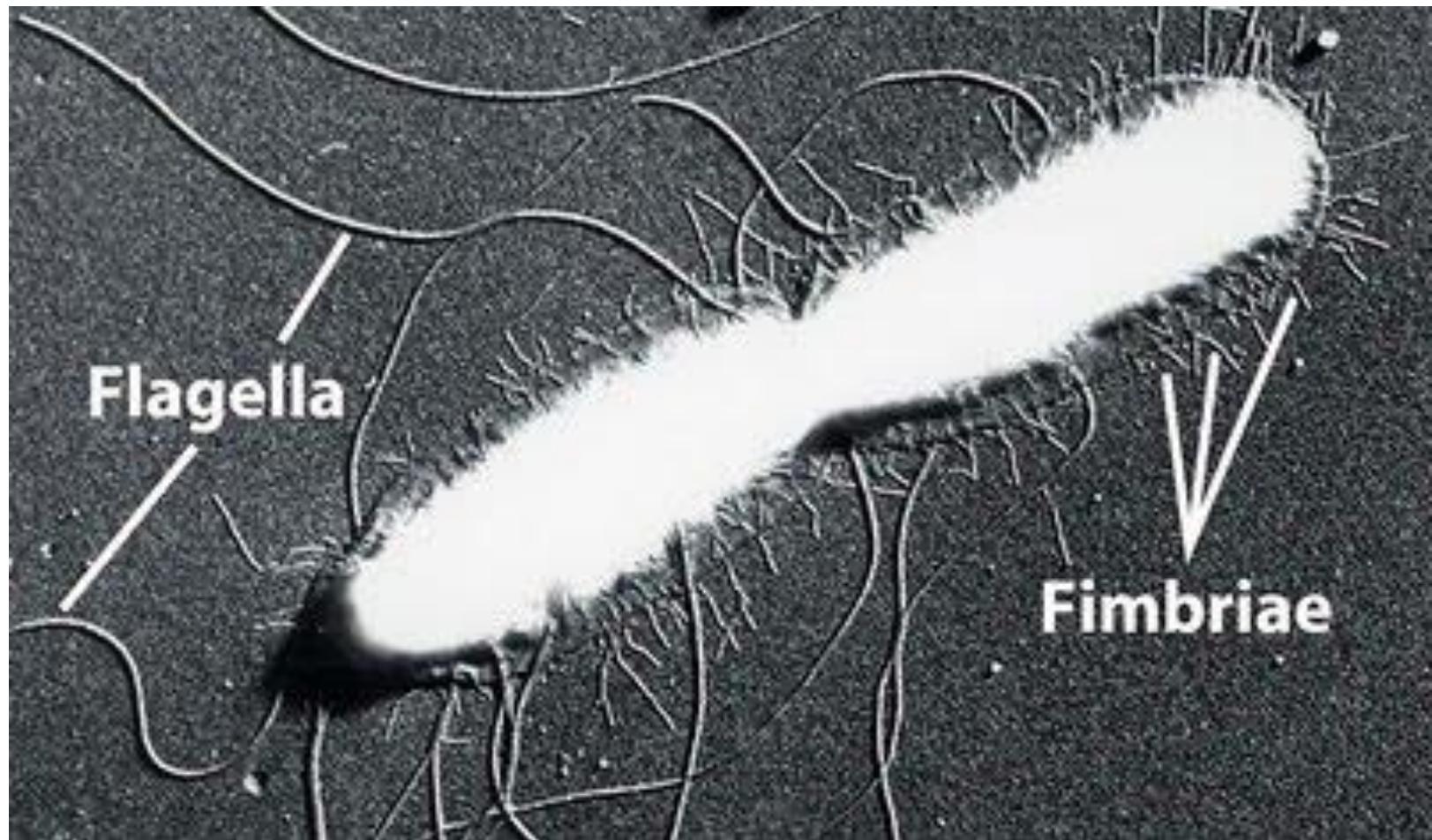


FÍMBRIAS (PILI)

Ex. *Neisseria gonorrhoeae*



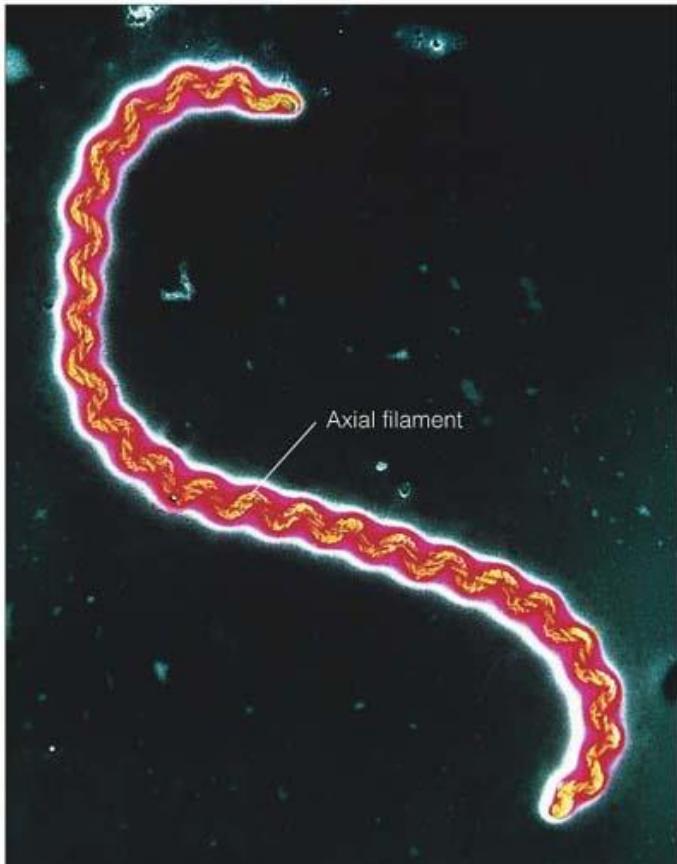
FÍMBRIAS (PILI)



FILAMENTOS AXIAIS

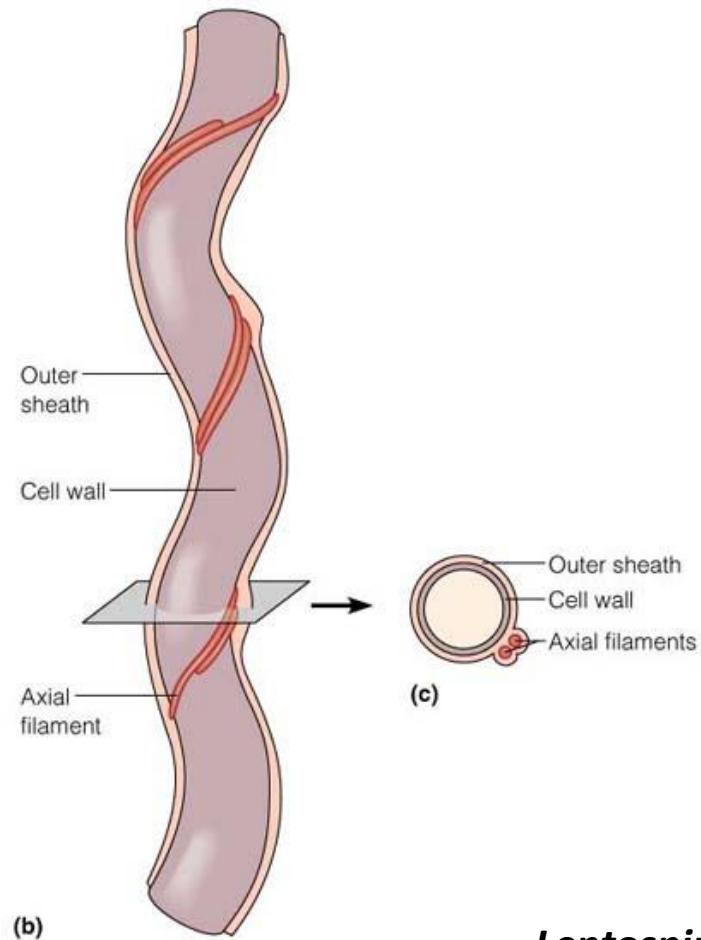
- Também chamados de endoflagelos
- Estrutura e mobilidade exclusivas das espiroquetas
- Feixes de fibrilas que fazem um espiral em torno da célula

FILAMENTOS AXIAIS



(a)

SEM 1 μm

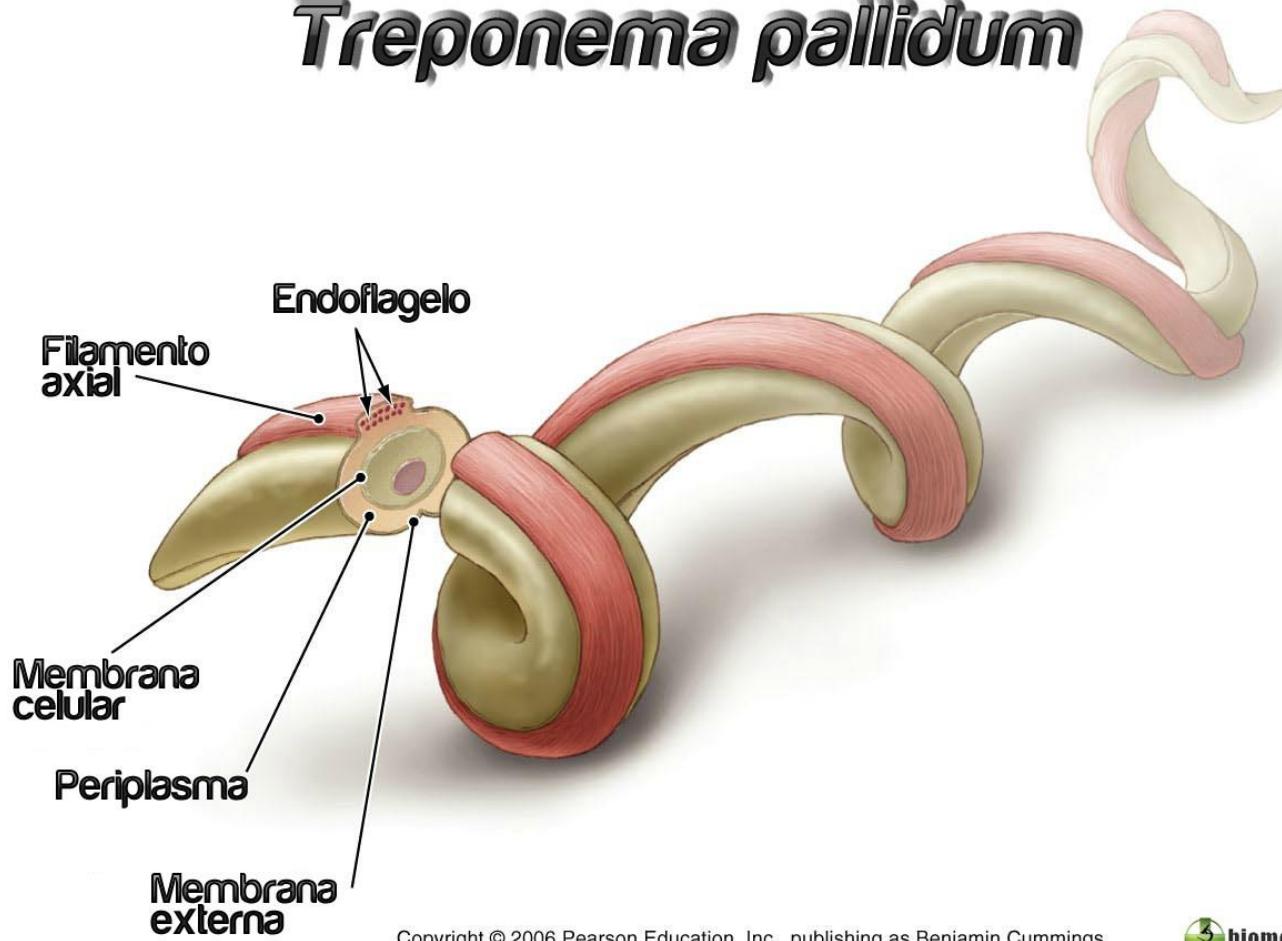


(b)

Leptospira sp.

FILAMENTOS AXIAIS

Treponema pallidum

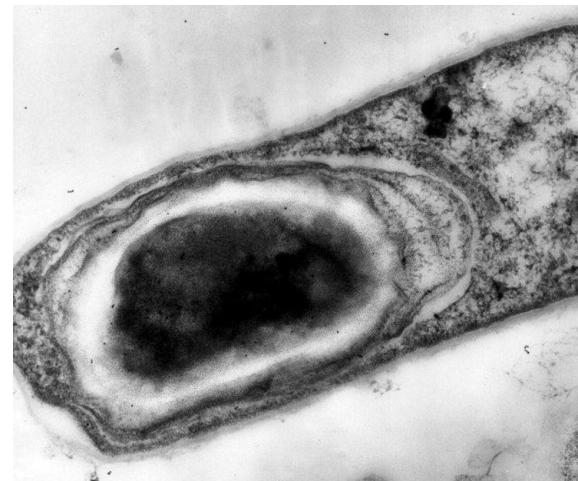
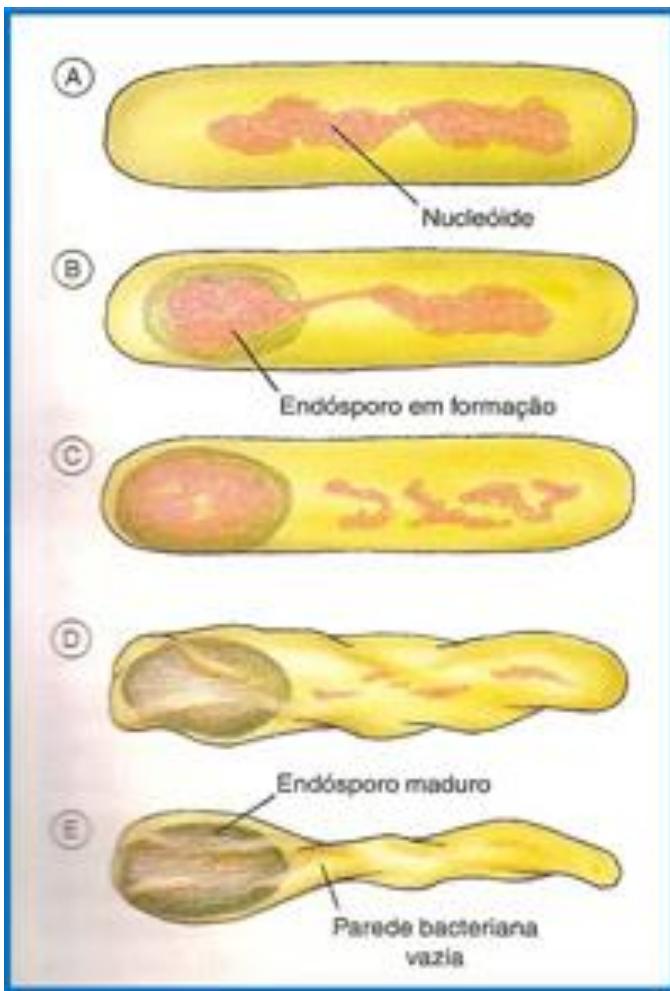


Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

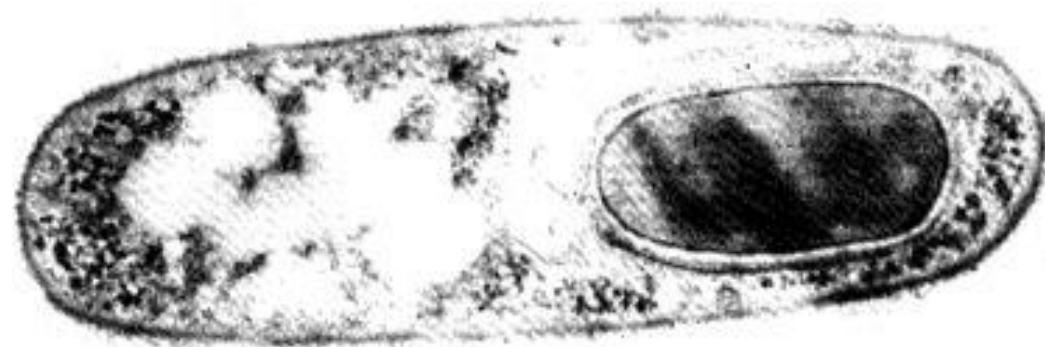
ENDOSPOROS

- Estratégia para período de deleção de nutrientes e más condições ambientais
- Células desidratadas altamente duráveis
- Ocorre em bactérias Gram-positivas dos gêneros Clostridium e Bacillus
- tétano, botulismo, gangrena gasosa, carbunculose
- Estruturas não reprodutivas

ENDOSPOROS



Bacillus anthracis



CRESCIMENTO E METABOLISMO BACTERIANO

Prof. Dr. Ricardo da Costa Rocha

Crescimento Microbiano

Corresponde ao aumento no número de indivíduos e não ao aumento (tamanho) de uma determinada célula

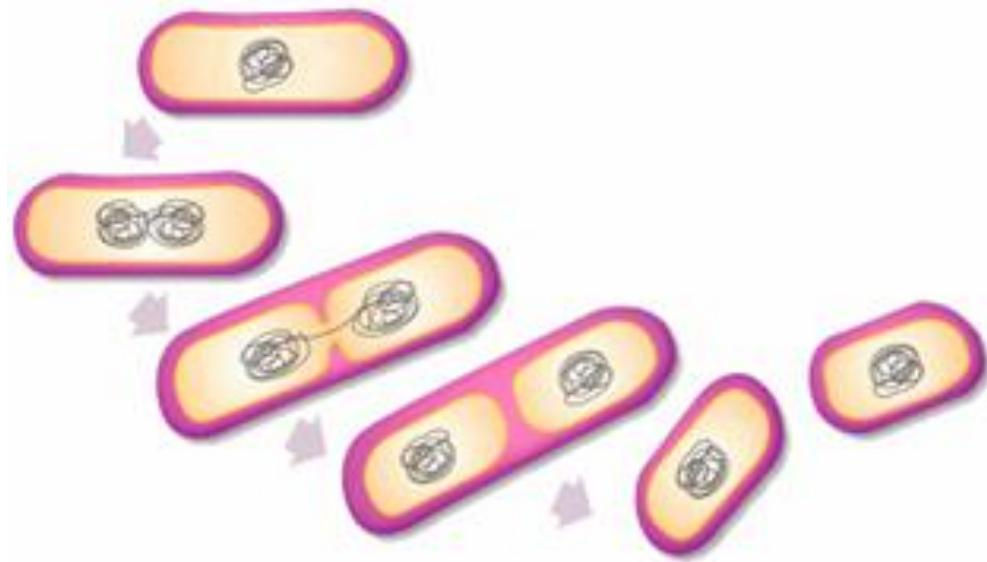
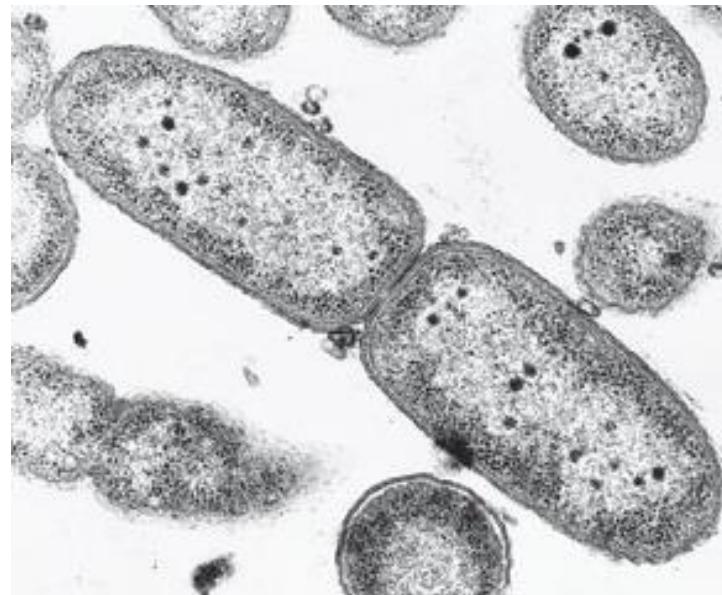
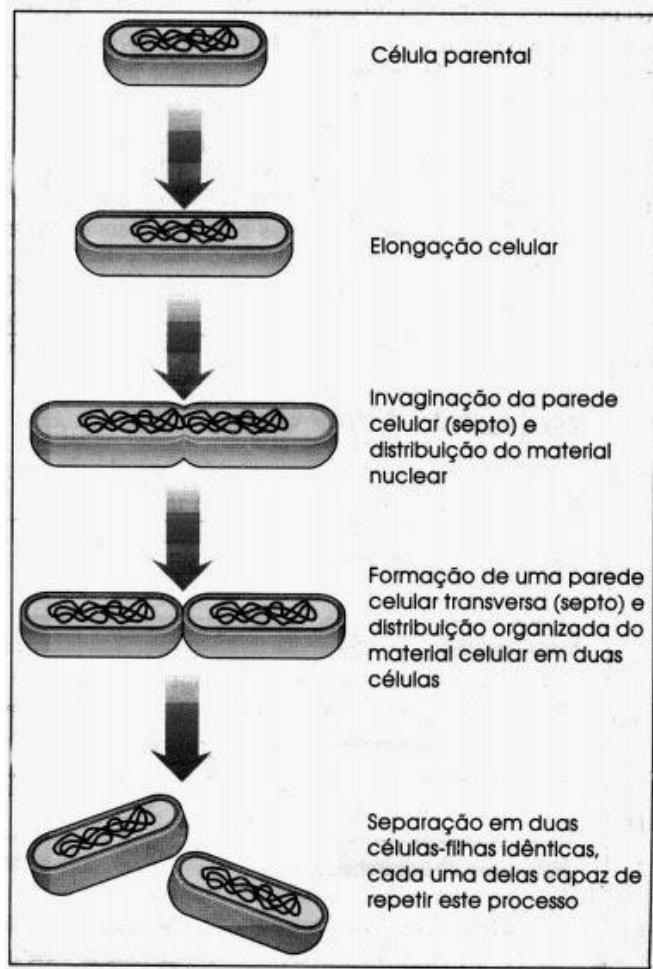
Por que estudar o crescimento dos microrganismos?

- Isolar e identificar os agentes que causam as doenças infecciosas
- Desenvolver agentes antimicrobianos (controlar o crescimento)
- Preservação dos alimentos
- Estimular o crescimento de microrganismos benéficos

Crescimento Microbiano

Reprodução Bacteriana

• Fissão binária



Crescimento Microbiano

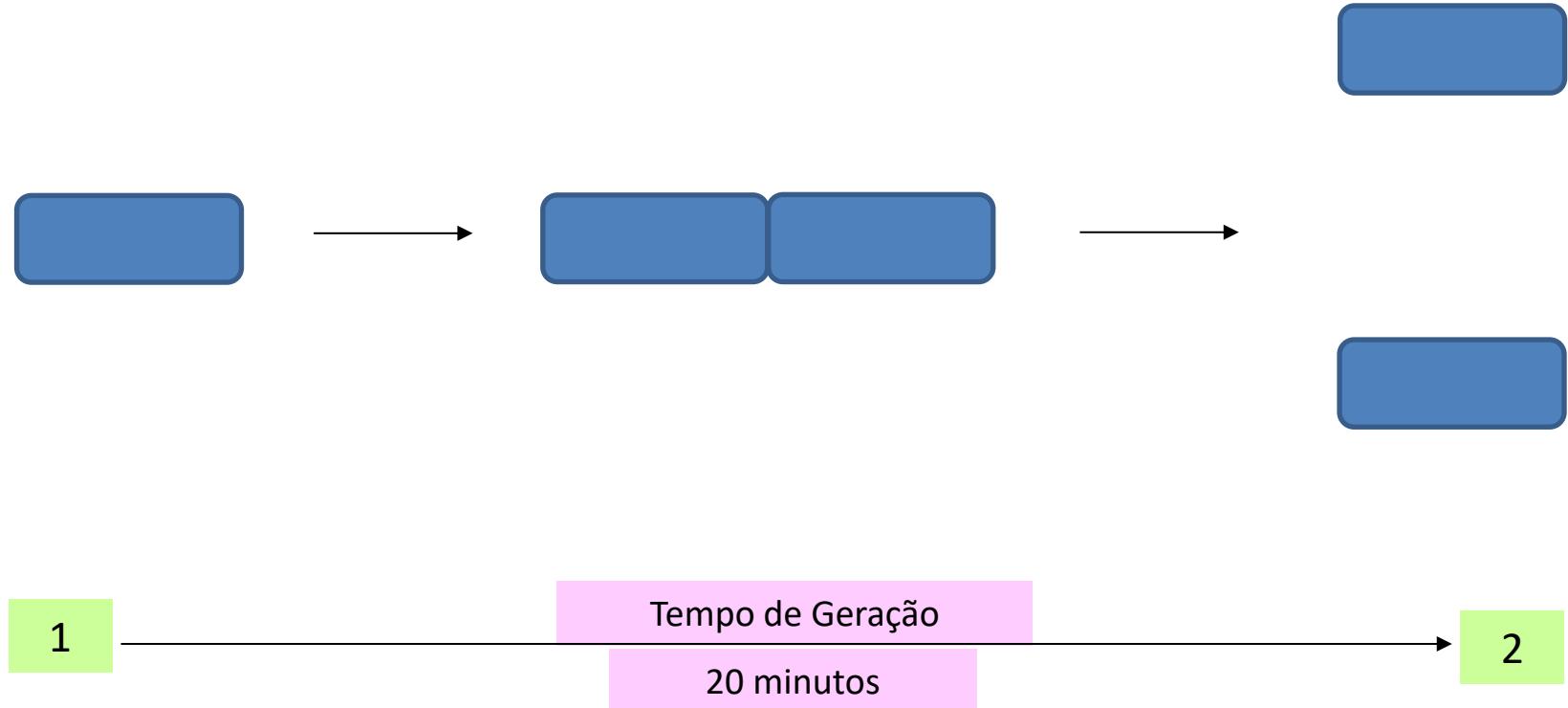
Tempo de Geração

- Tempo necessário para uma célula se dividir (e sua população duplicar)
- Varia entre os organismos e com as condições ambientais
- A maioria, de 1 a 3 horas

Crescimento Microbiano

Ex. *Escherichia coli*

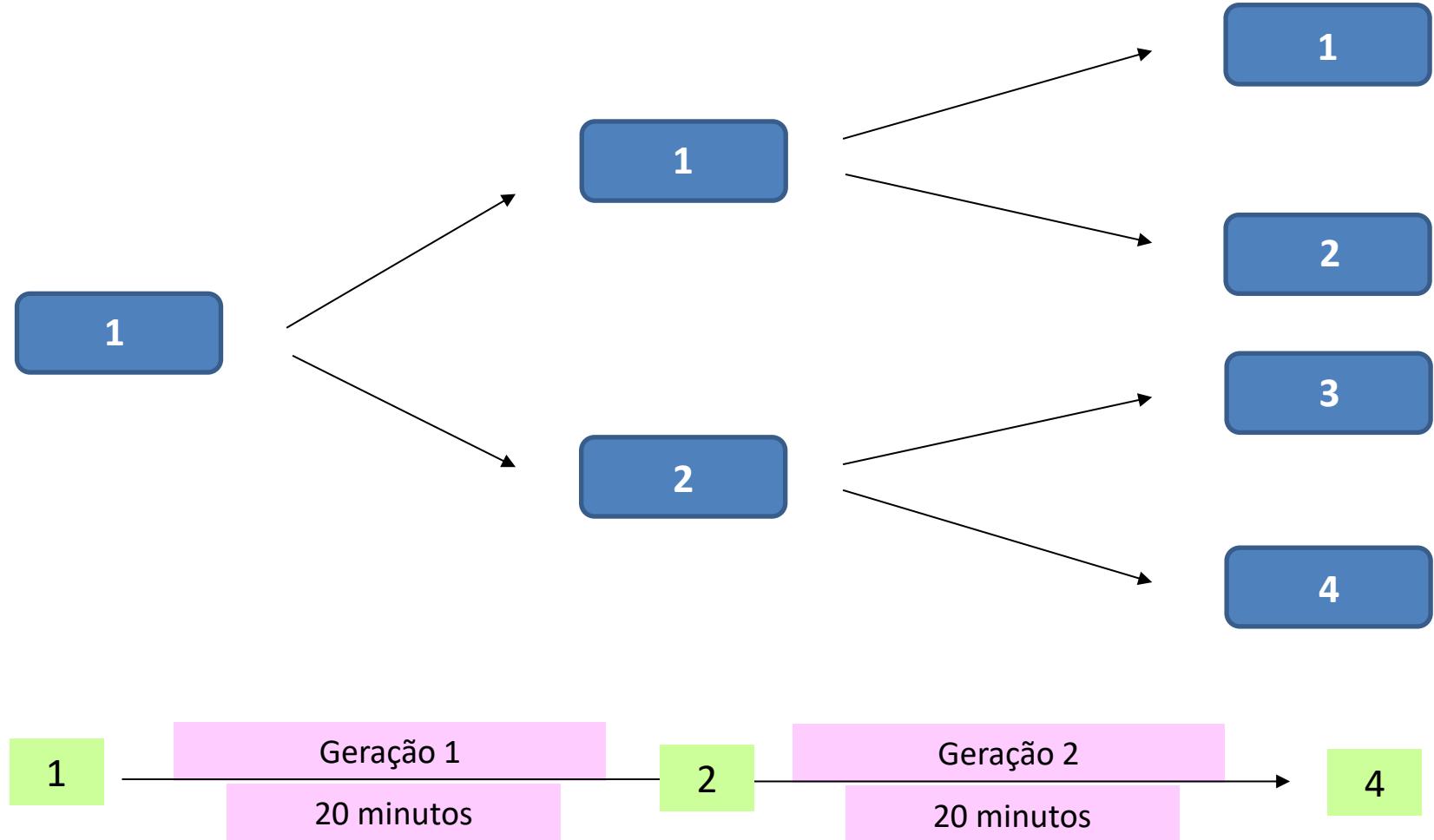
- Tempo de geração: 20 minutos



Crescimento Microbiano

Ex. *Escherichia coli*

- Tempo de geração: 20 minutos



Crescimento Microbiano

Curva de Crescimento Bacteriano



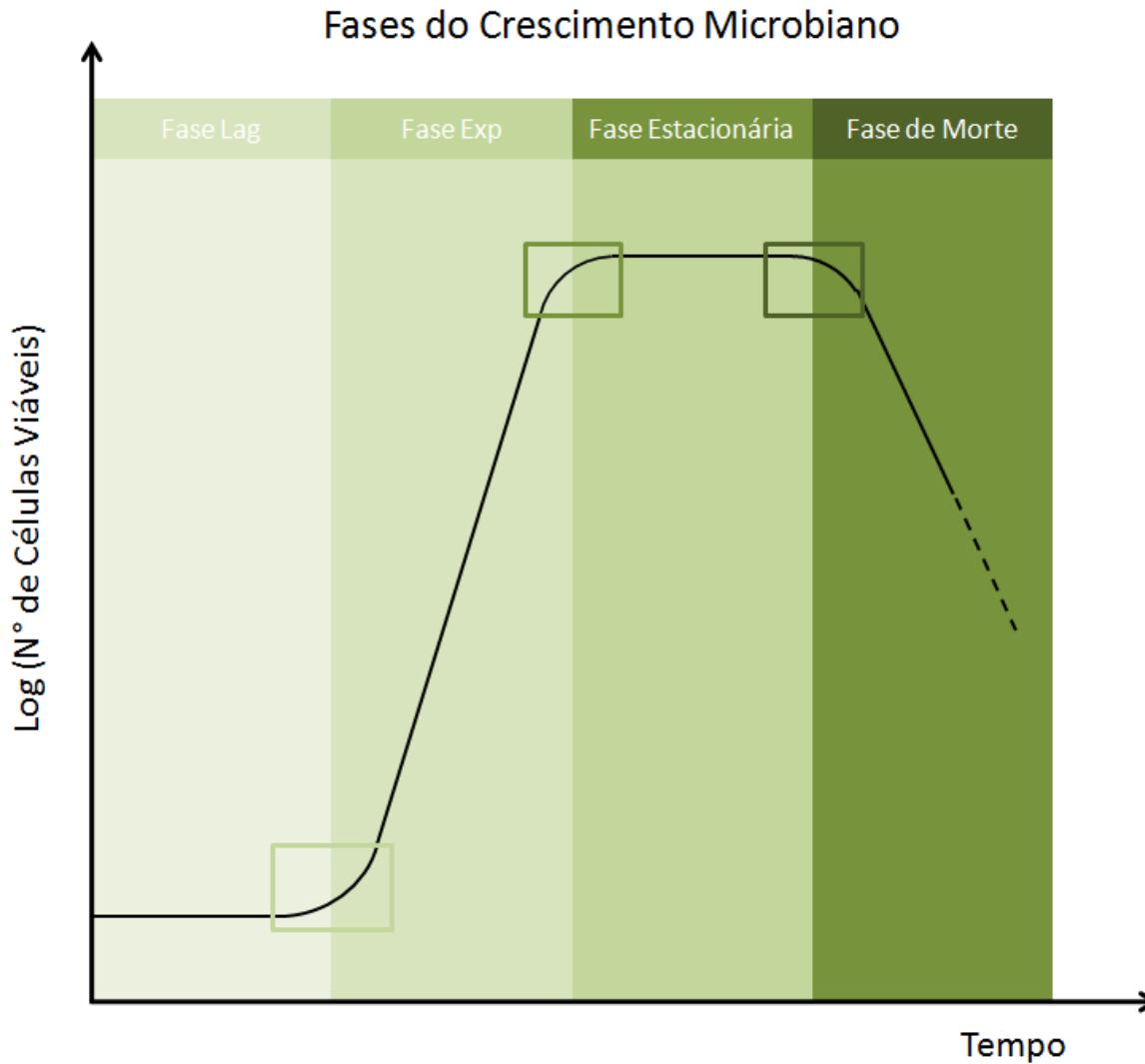
Crescimento Microbiano

Curva de Crescimento Bacteriano

- Mostra o crescimento das células em função do tempo
- 4 fases básicas de crescimento:
 - 1) Fase lag
 - 2) Fase log (ou exponencial)
 - 3) Fase estacionária
 - 4) Fase de morte celular (ou declínio)

Crescimento Microbiano

Curva de Crescimento Bacteriano

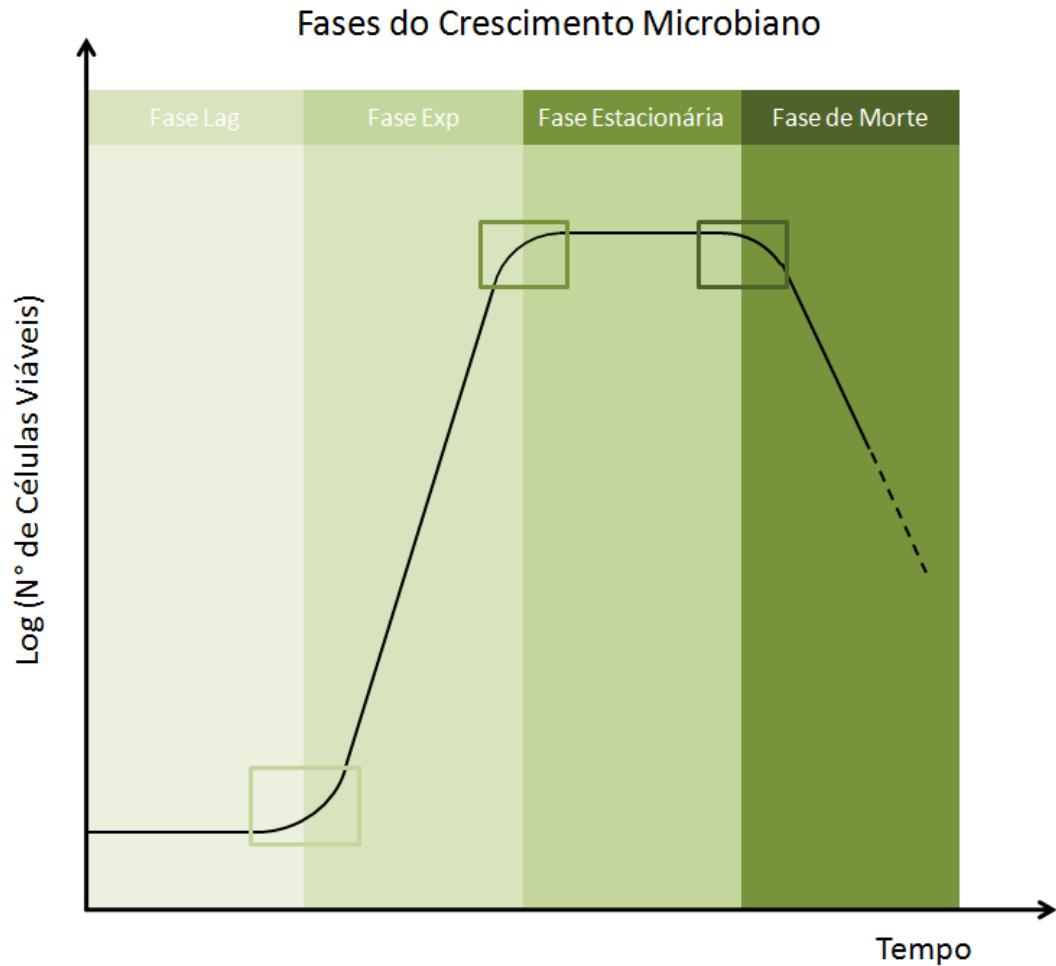


Crescimento Microbiano

Curva de Crescimento Bacteriano

Fase lag

- Período de pouca ou nenhuma divisão
- De 1 hora a vários dias
- Células não estão dormentes
- Período de intensa atividade metabólica

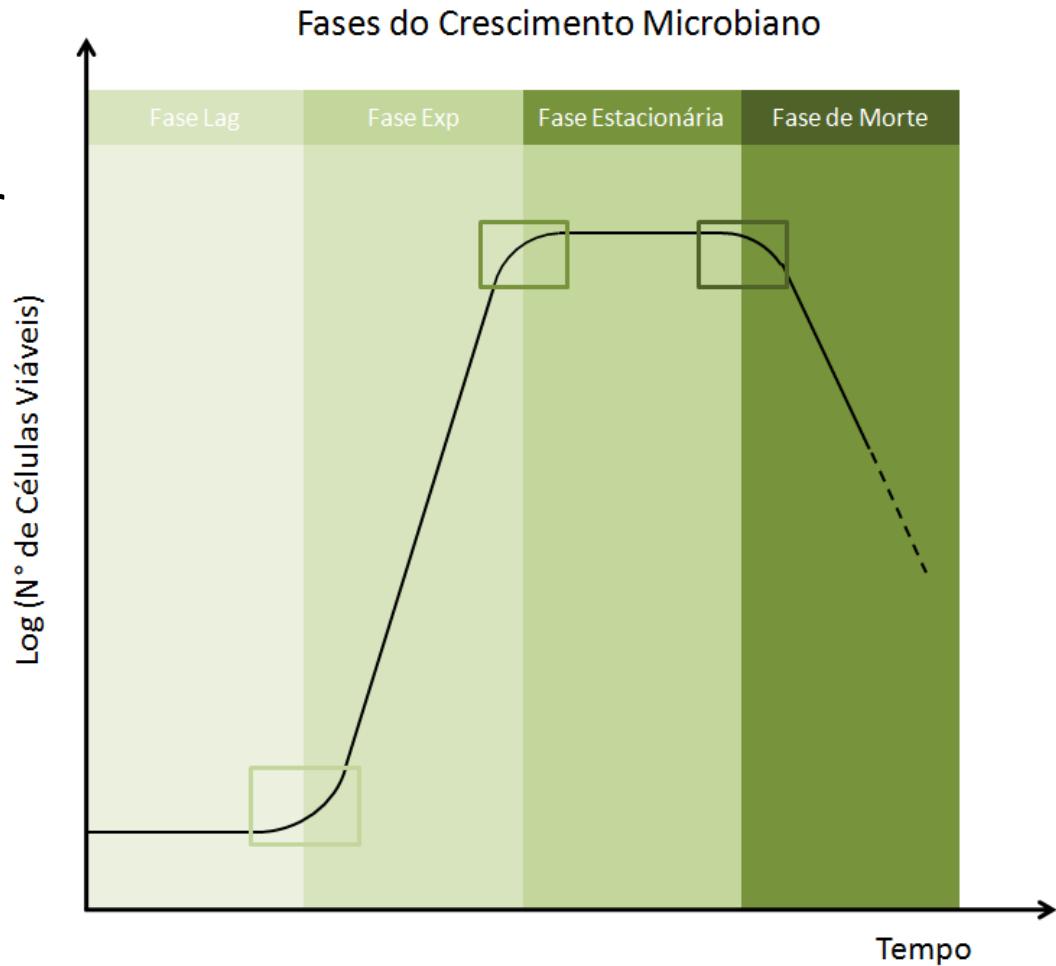


Crescimento Microbiano

Curva de Crescimento Bacteriano

Fase log

- Células começam a se dividir
- Reprodução celular ativa
- Valor do tempo de geração constante
- Momento de maior atividade metabólica

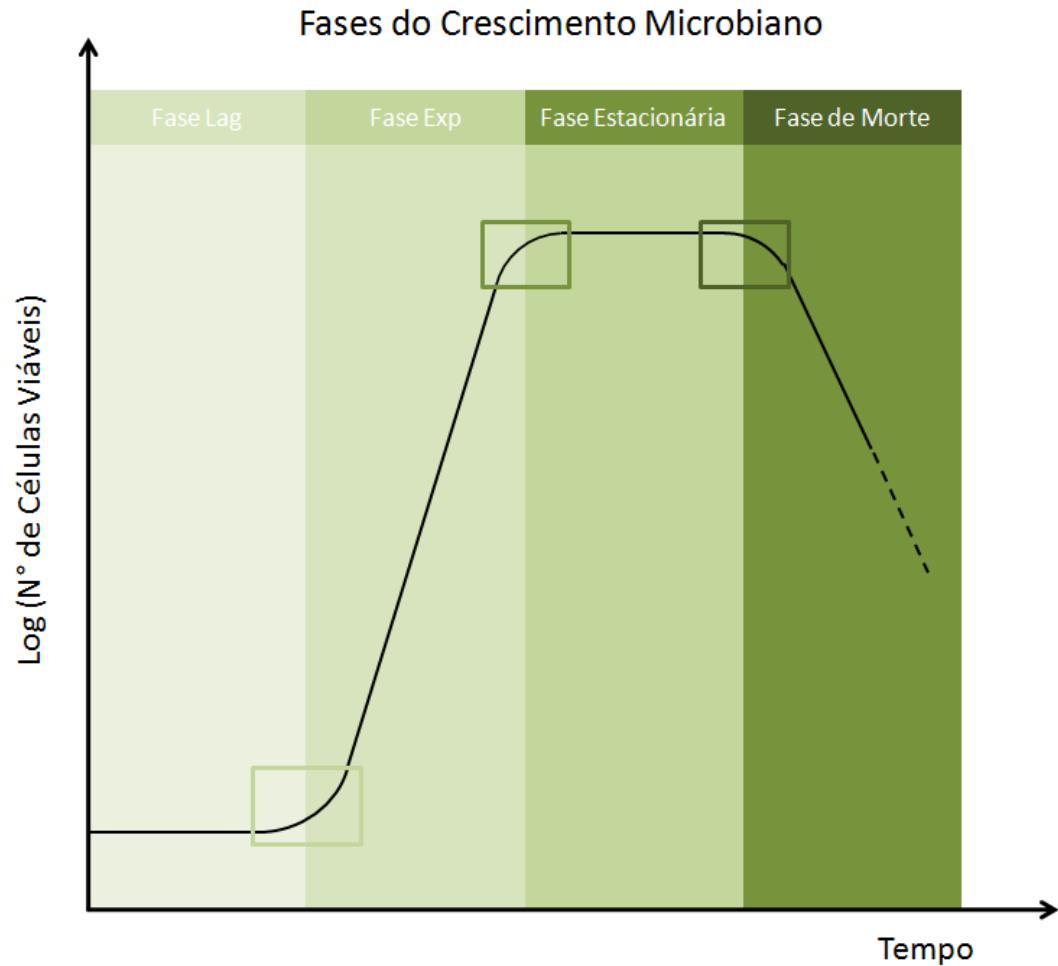


Crescimento Microbiano

Curva de Crescimento Bacteriano

Fase estacionária

- Redução na velocidade de reprodução
- Número de mortes microbianas = número de células novas
- Estabilização da população

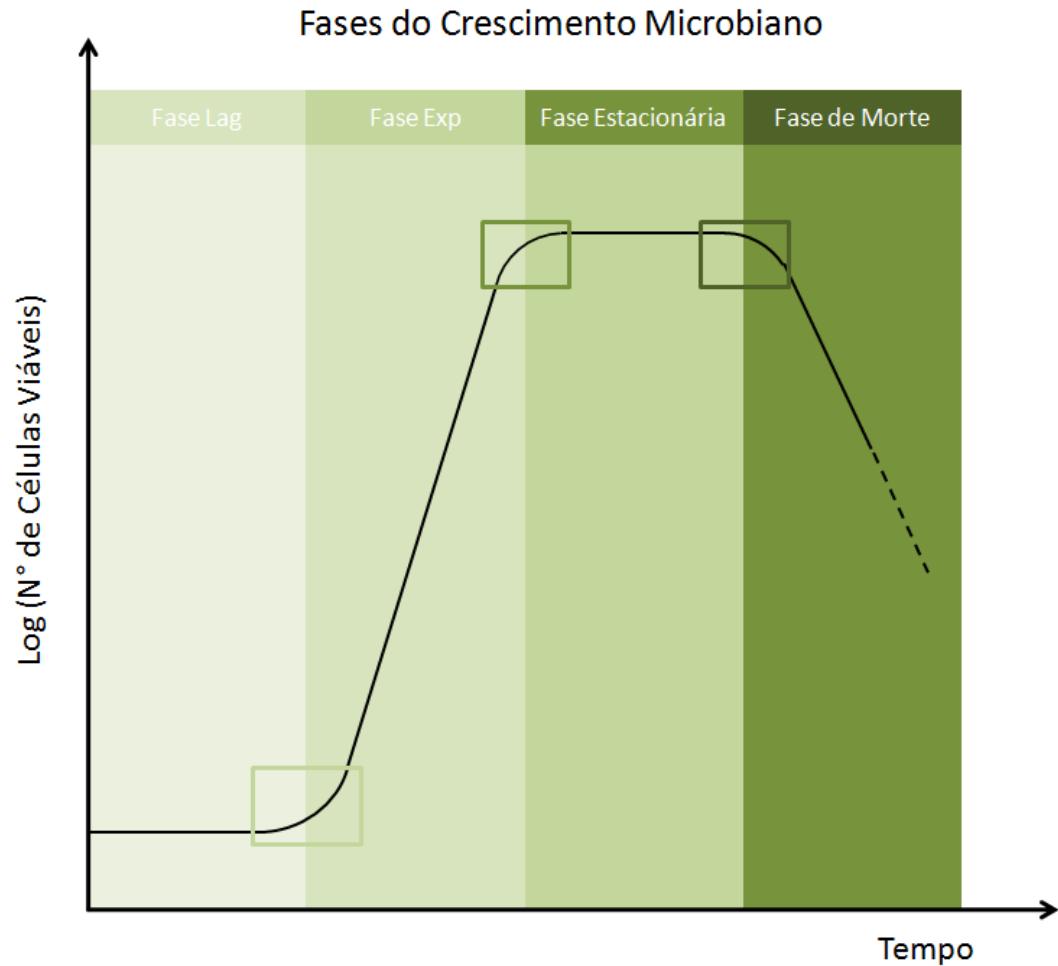


Crescimento Microbiano

Curva de Crescimento Bacteriano

Fase estacionária

- Por que param de crescer?
 - Esgotamento dos nutrientes
 - Acúmulo de resíduos
 - Mudanças no pH danosas à célula

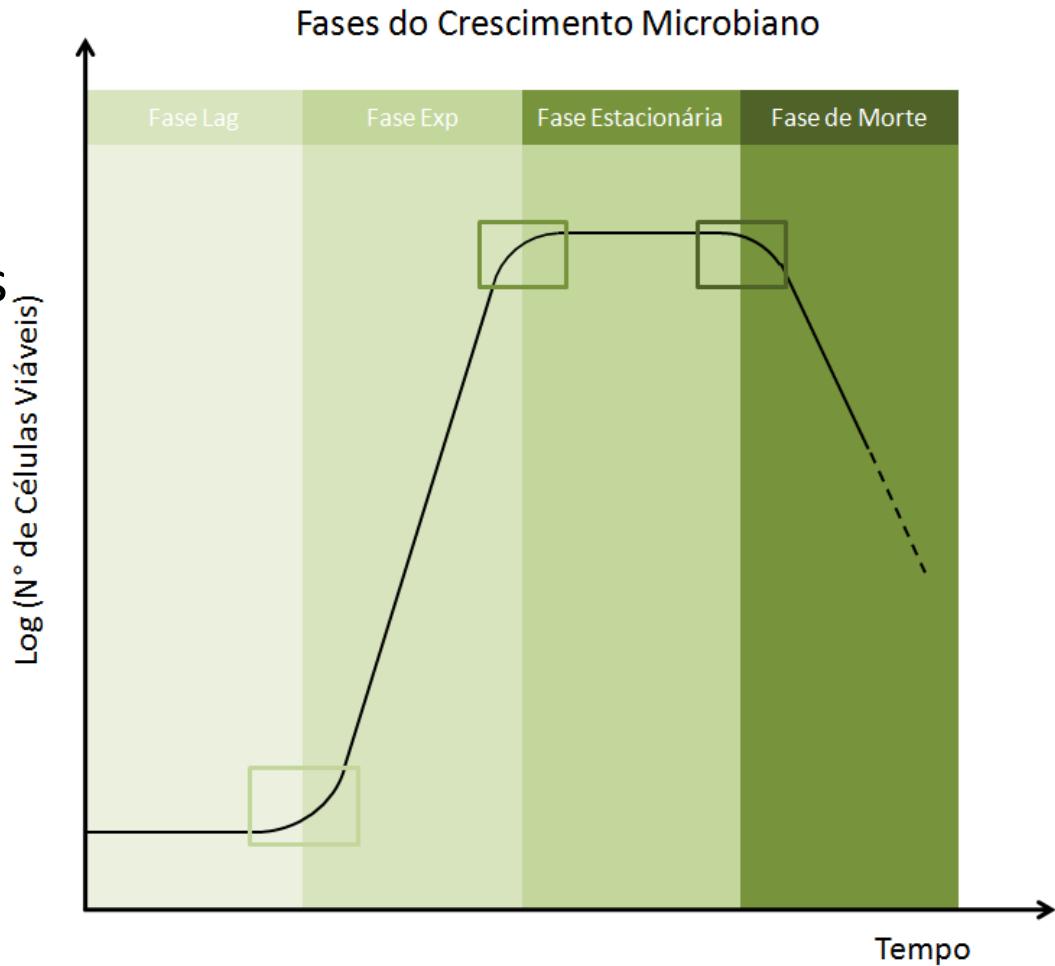


Crescimento Microbiano

Curva de Crescimento Bacteriano

Fase de morte celular

- Número de mortes ultrapassa o número de células novas
- Fase continua até que permaneça uma pequena fração da fase anterior ou ocorra totalmente a morte



As bactérias são **grandemente diversificadas** em relação aos seus requerimentos nutricionais, sendo que, **para praticamente qualquer substância há um microrganismo capaz de metabolizá-la como nutriente.**

Fatores que afetam o crescimento

Físicos

- Temperatura
- pH
- Pressão osmótica

Químicos

- Carbono
- Nitrogênio, Enxofre e Fósforo
- Oxigênio
- Elementos traços
- Fatores orgânicos de crescimento

Fatores que afetam o crescimento

Físicos

1) Temperatura

- A maioria cresce bem nas temperaturas ideais para os seres humanos
- **Temperatura ótima de crescimento:** temperatura na qual a espécie cresce melhor (tempo de geração mais curto)
- **Temperaturas mínimas e máximas de crescimento:** menores e a maiores temperaturas que permitem a divisão celular
- A temperatura ótima para o crescimento está mais próxima da máxima do que da mínima.

Fatores que afetam o crescimento

Físicos

1) Temperatura

Psicrófilos (crescem em baixas temperaturas) – -10° a 20°C

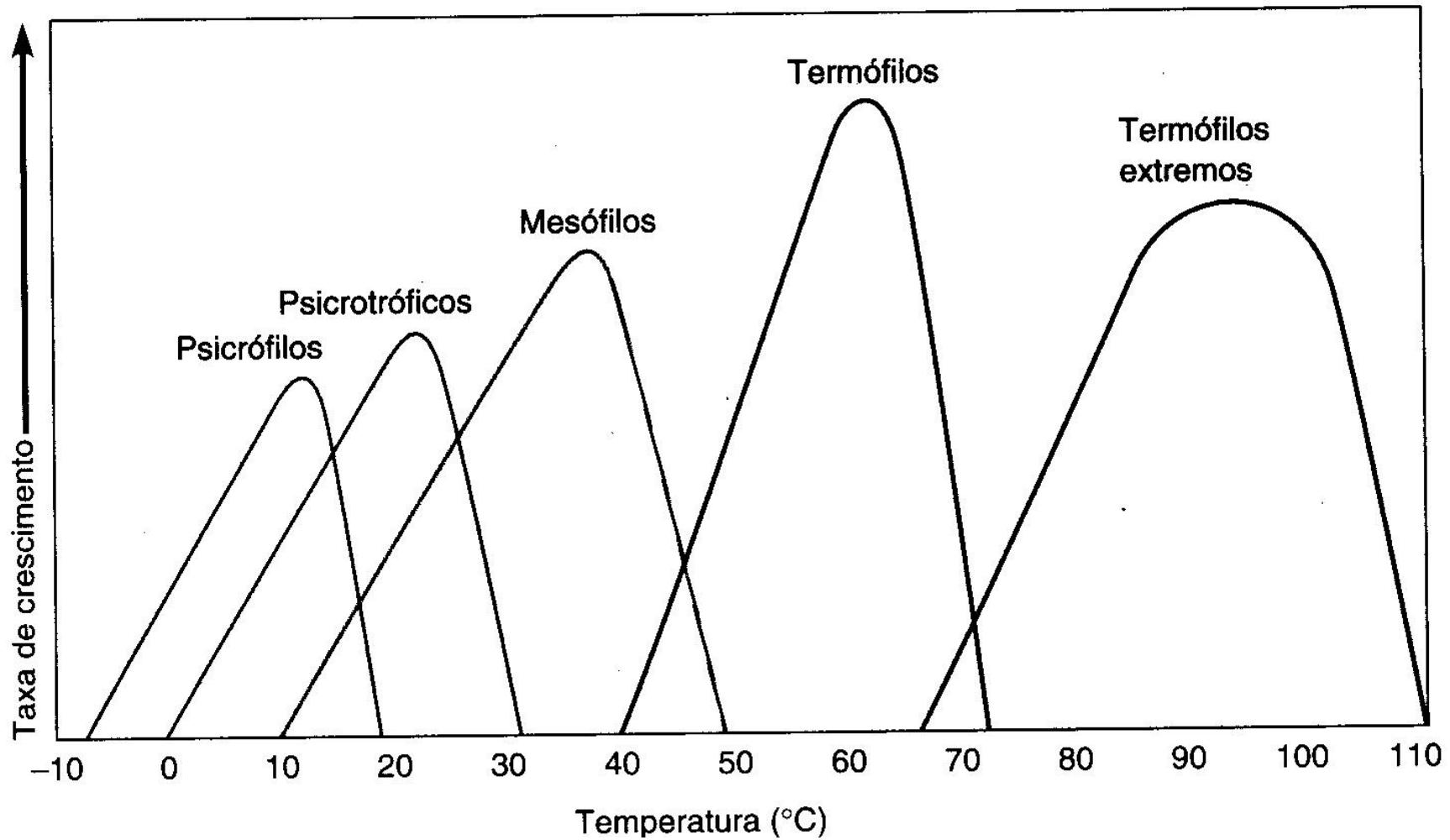
Psicrotrófilos (crescem em baixas temperaturas) – 0° a 30°C

Mesófilos (crescem em temperaturas moderadas) – 25° a 40°C

Termófilos (crescem em altas temperaturas) – 50° a 80°C

Hipertermófilos (crescem em altas temperaturas) – 65° a 110°C

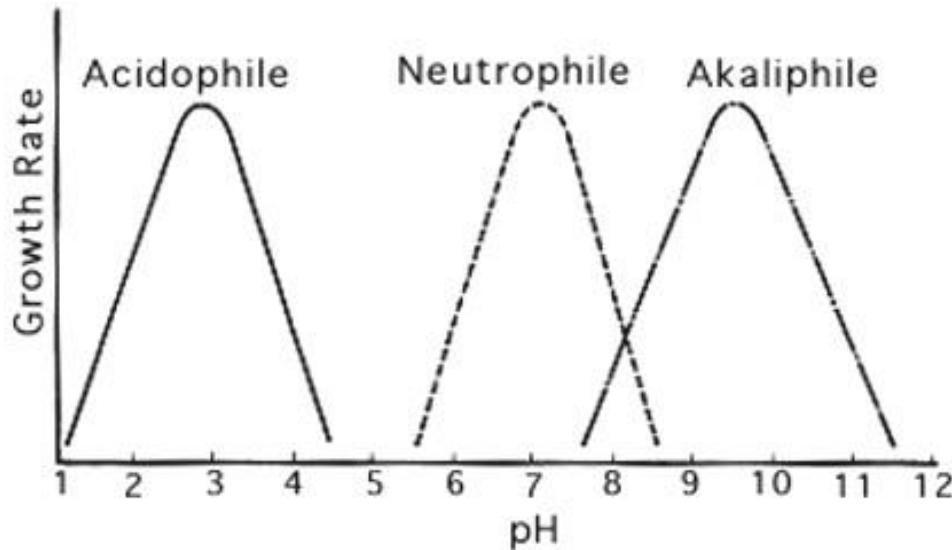
Fatores que afetam o crescimento



Fatores que afetam o crescimento

Físicos

2) pH



- **Bactérias Acidófilas (0,1 a 5,4 - resistentes à acidez)**
- **Bactérias Neutrófilas (5,4 a 8,5)**
- **Bactérias Alcalinófilas (8,5 a 11,5 – resistentes à alcalinidade)**

Fatores que afetam o crescimento

Físicos

Pressão Osmótica

- A maioria dos nutrientes oriundos da água (composição de 80-90%)

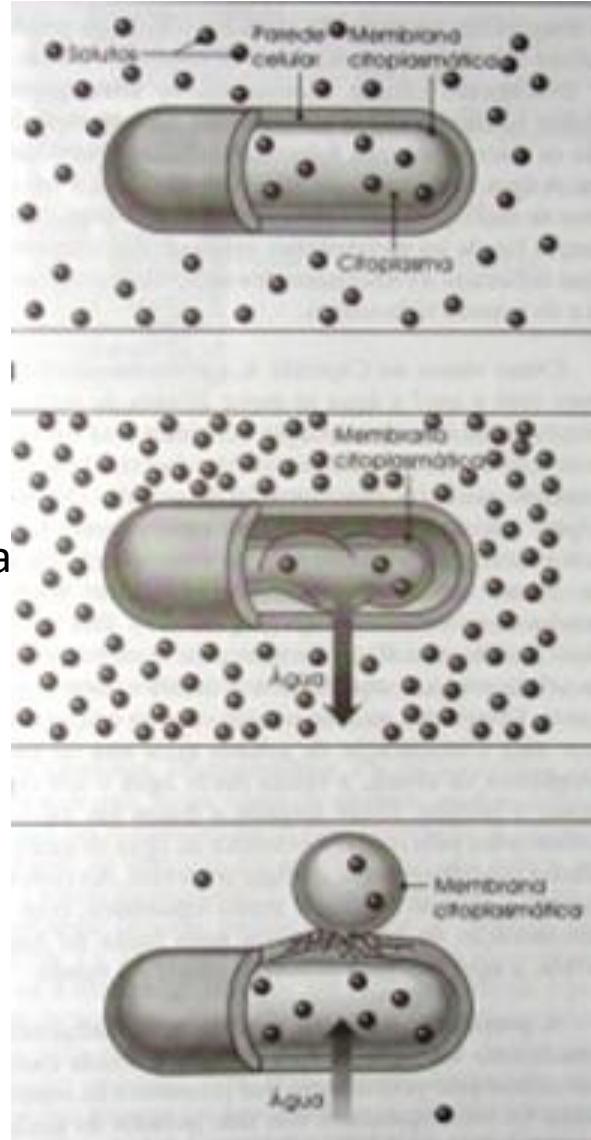
Plasmólise (perda de água da célula para um meio com $>$ conc. sol)

Lise celular (entrada de água de um meio com $<$ conc. de soluto)

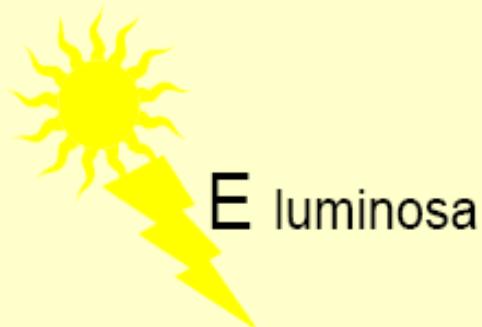
Isotônica

hipertônica

hipotônica

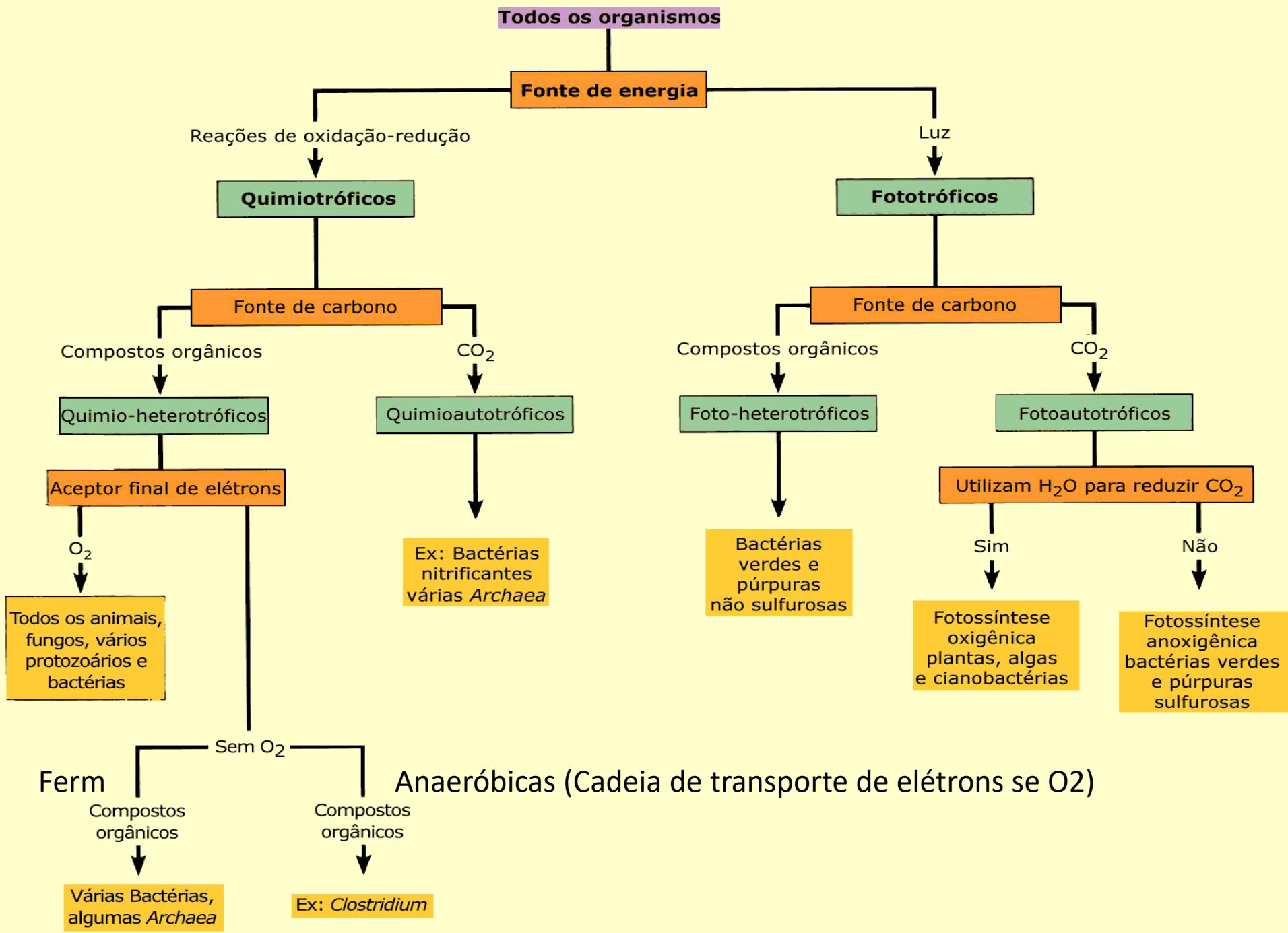


Fonte de energia



E Compostos
Inorgânicos
(Fe^{+2} , NO_2^- , H_2)

E Compostos
Orgânicos
(Glicose)

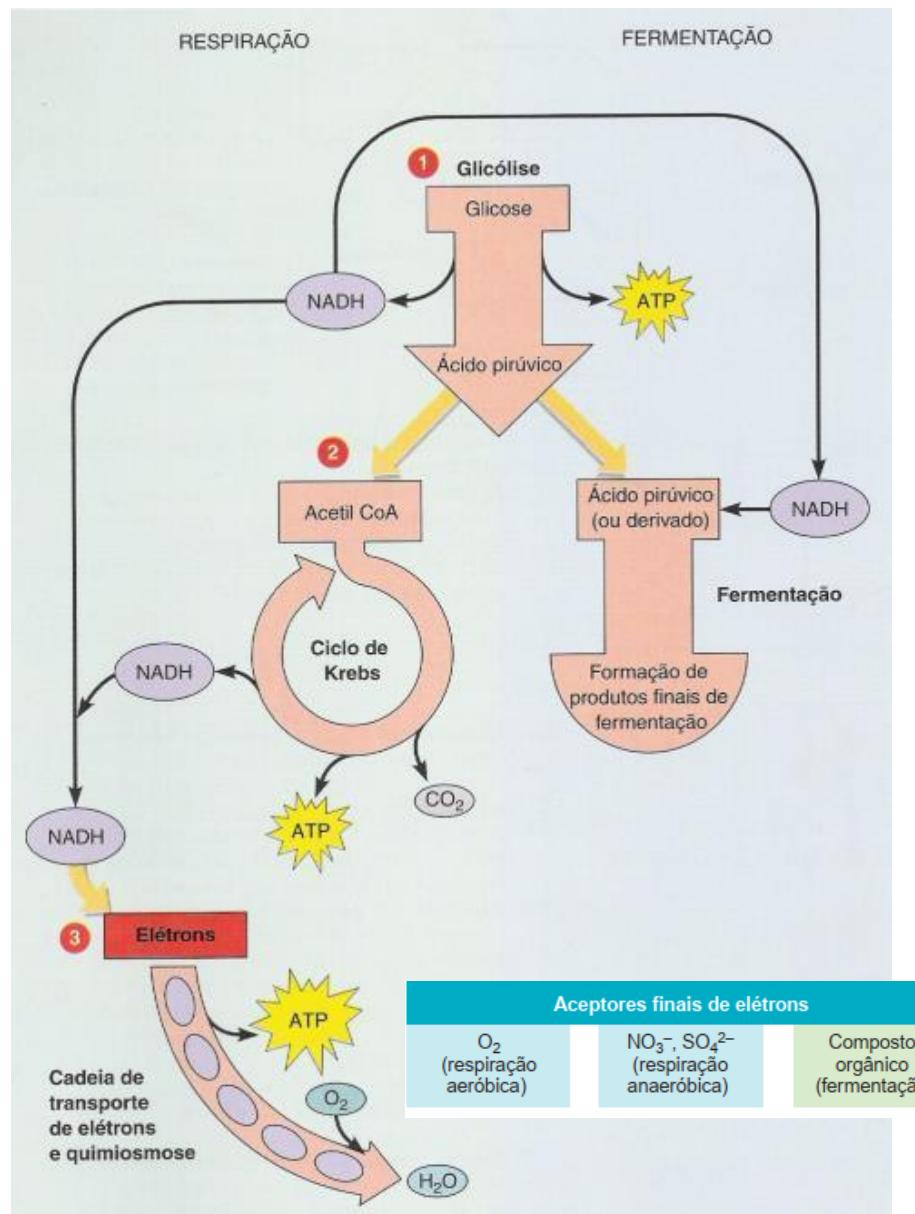
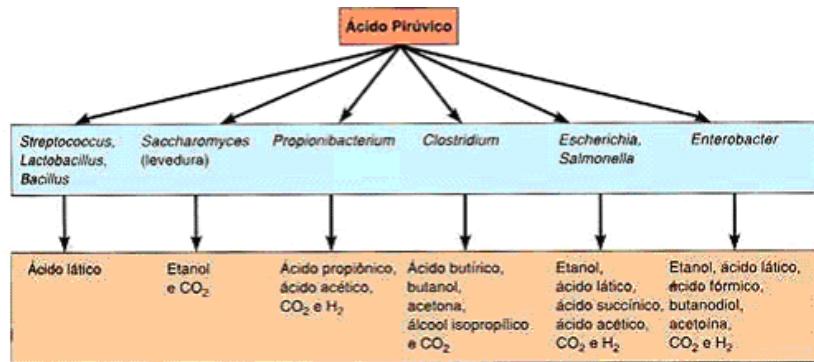


Respiração celular bacteriana

- Aeróbica (oxigênio)
- Anaeróbica (inorgânicos)
- Fermentação (indep. de oxigênio)

Biossíntese

- Lipídios
- aminoácidos
- proteínas



Fatores que afetam o crescimento

Macroelementos – Químicos

Requerem quantidades maiores. Essencial para formação da estrutura das bactérias

Carbono- Um dos fatores mais importantes para o crescimento

Nitrogênio – constituinte das proteínas, ácidos nucléicos, dentre outros;

Enxofre – constituinte das proteínas, aminoácidos e vitaminas;

Fósforo – constituinte dos ácidos nucléicos e fosfolipídeos, sínteses de vitaminas.

Fatores que afetam o crescimento

Microelementos Químicos

Elementos traços

Requerem quantidades muito pequenas de outros elementos minerais

Essencial para a função de certas enzimas (catalizadores)

- Ferro
- Cobre
- Molibdênio
- Zinco

Fatores que afetam o crescimento

Classe de bactérias em relação a necessidade de oxigênio

Presença de oxigênio –

- **Aeróbios obrigatórios** (requerem oxigênio para crescer). M. tuberculosis
- **Aeróbios facultativos** (capacidade de crescer na presença ou na ausência de oxigênio). E. coli
- **Anaeróbios obrigatórios** (presença do oxigênio impede o crescimento). Clostridium perfringens
- **Anaeróbios aerotolerantes** (não utilizam o oxigênio para o crescimento, mas o toleram relativamente bem)
- **Microaerófilas** (crescem somente em concentrações de oxigênio inferiores às do ar. Requerem concentrações mais altas de CO₂) C. jejuni

Fatores que afetam o crescimento

Oxigênio

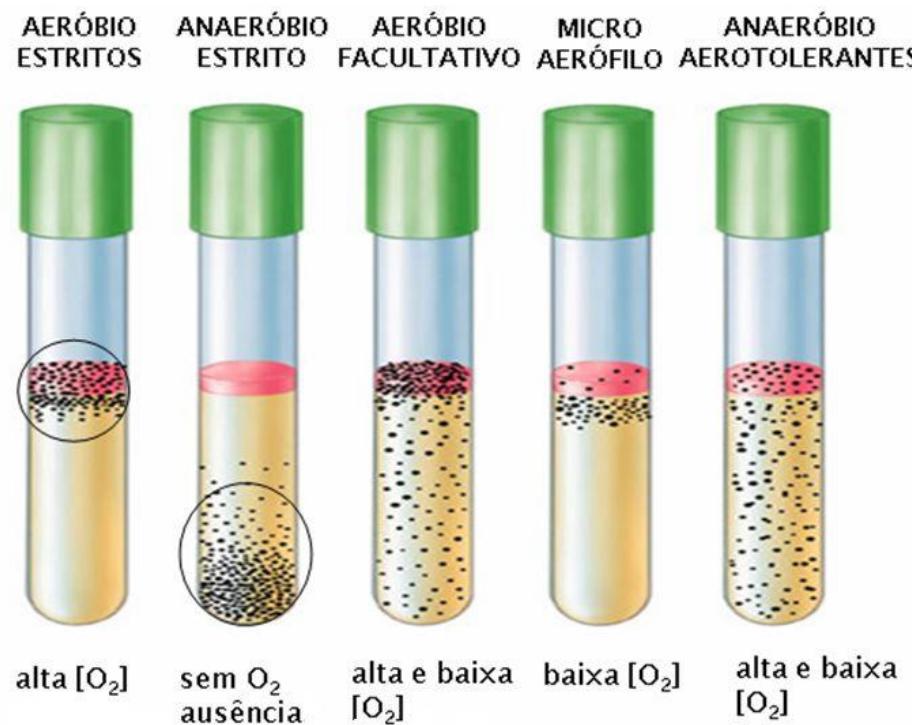
Efeito do O₂ sobre o crescimento de vários tipos de bactérias

Enzimas transforma oxigênio tóxico

Superoxido desmutase:
Oxigenio toxico em peróxido de hidrogênio

Catalase: Peróxido de hidrogênio em água e oxigênio não tóxico

Peroxidase: Peróxido de hidrogênio em água



Teste de catalase: água oxigenada colocada numa colônia de bactéria

Fatores que afetam o crescimento

Químicos

Água

- Essencial para os microrganismos
- Disponibilidade variável no ambiente
- Regulação da entrada de água

Desenvolvem mecanismos para obter água através do aumento da concentração de solutos internos seja pelo bombeamento de íons para o interior celular ou pela síntese de solutos orgânicos (açúcares, álcoois ou aminoácidos)

Meios de cultura

- Meio quimicamente definido – específico para algumas espécies
- Meio complexo- cresce maioria de um grupo



Tabela 6.2

Meio quimicamente definido para o crescimento de um quimio-heterotrófico típico como *Escherichia coli*

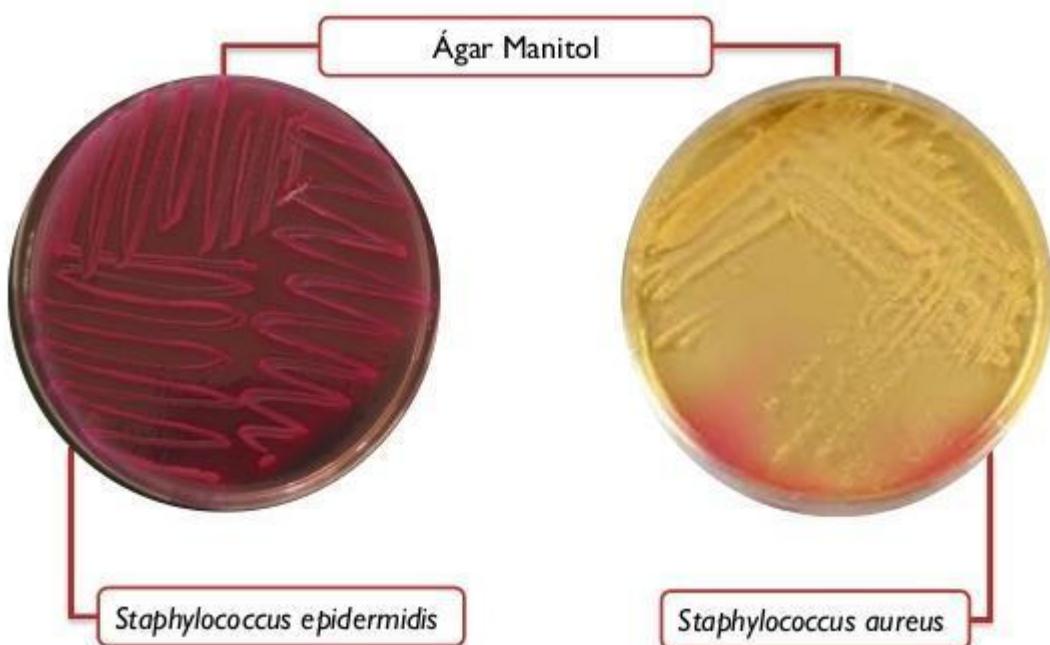
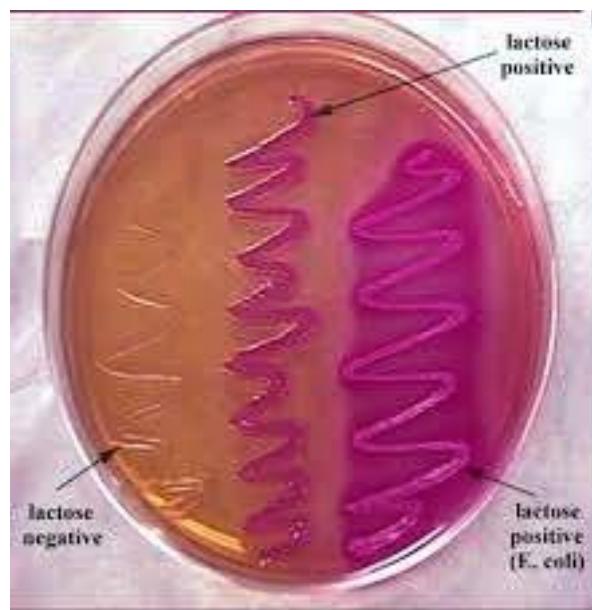
Componentes	Quantidades	Componentes	Quantidades
Glicose	5,0 g	Peptona (proteína parcialmente digerida)	5,0 g
Fosfato de amônio, monobásico ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$)	1,0 g	Extrato de carne	3,0 g
Cloreto de sódio (NaCl)	5,0 g	Cloreto de sódio	8,0 g
Sulfato de magnésio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,2 g	Ágar	15,0 g
Fosfato de potássio, dibásico (K_2HPO_4)	1,0 g	Água	1 litro
Água	1 litro		

Tabela 6.4

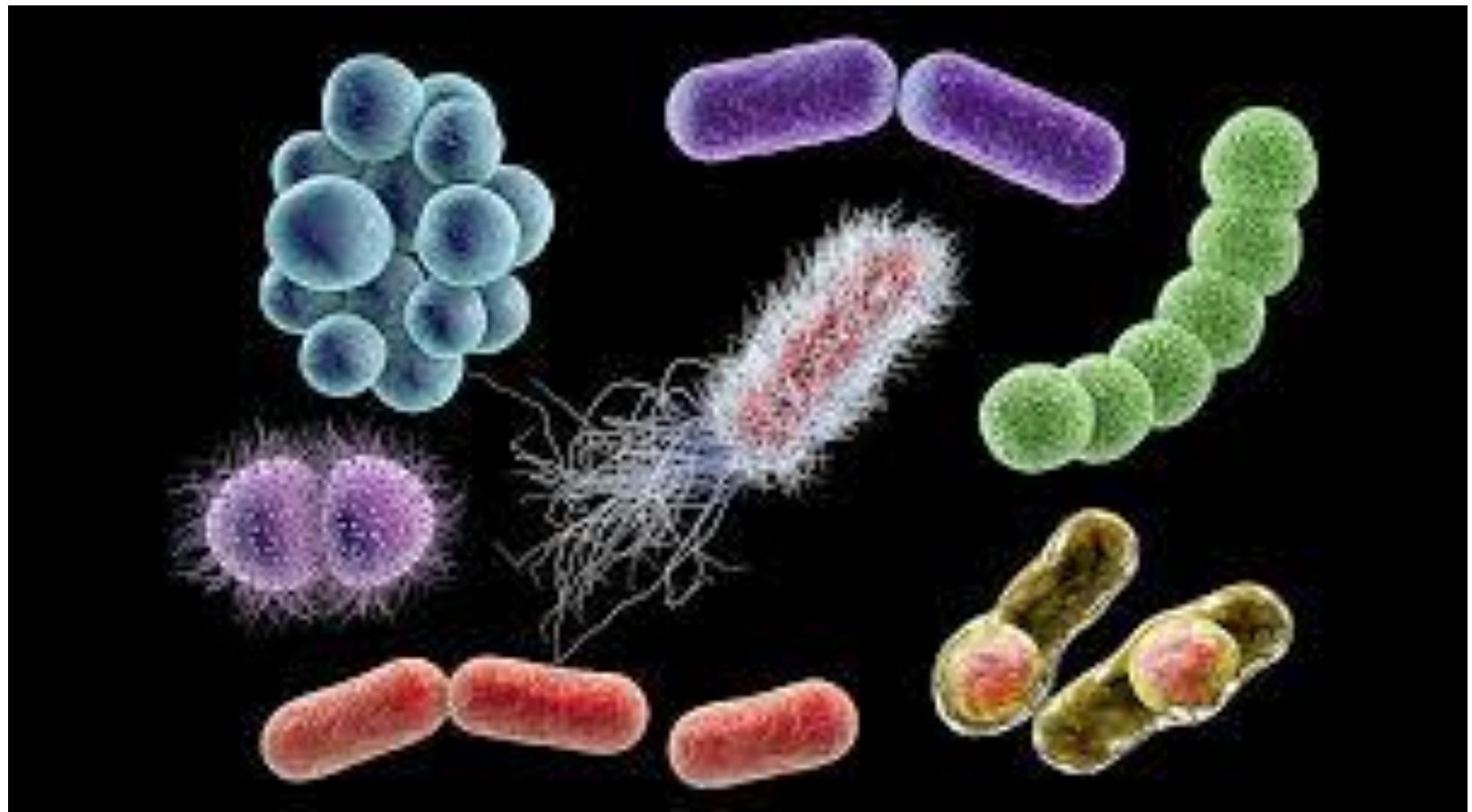
Composição do ágar nutritivo: um meio complexo para o crescimento de bactérias heterotróficas

Meios de cultivo

- Meio seletivo (substância que suprime crescimento de grupos de bactérias)
- Meio diferencial (diferencia grupos de bactérias – indicador de ph)



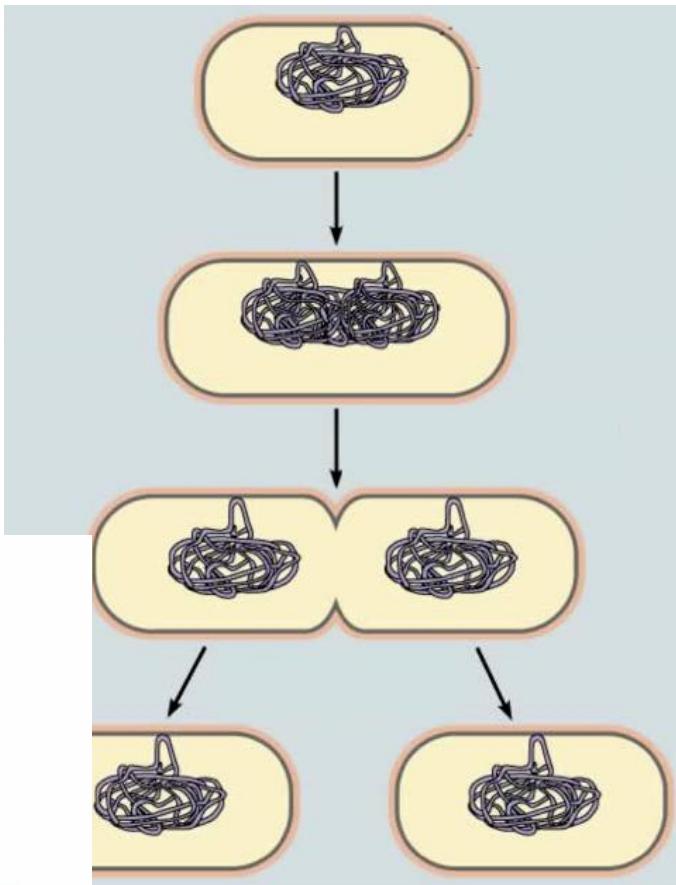
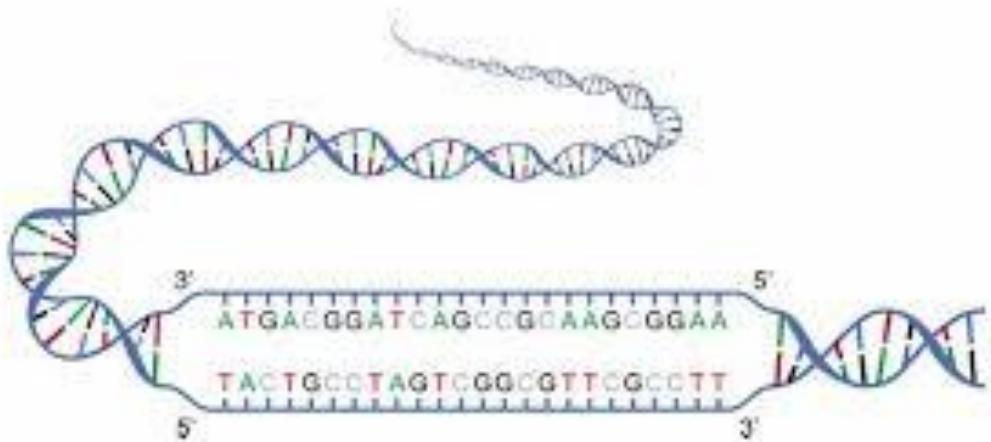
GENÉTICA BACTERIANA



Prof. Dr. Ricardo Rocha

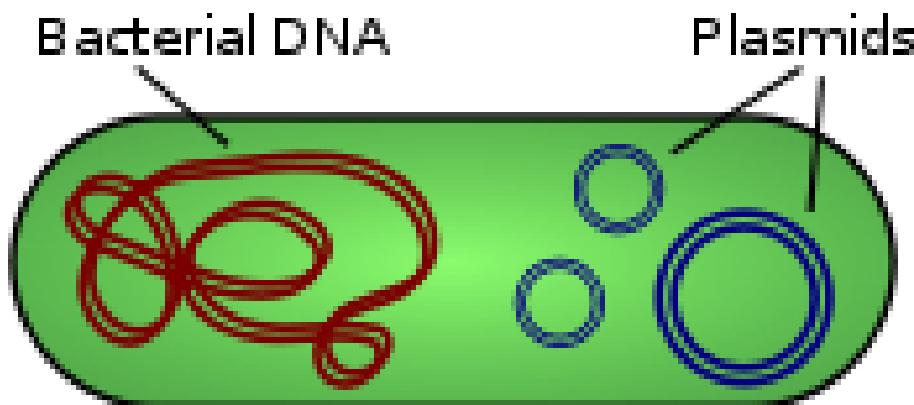
Reprodução bacteriana

Reprodução assexuada por crescimento e divisão celular
(bipartição)



Estrutura DNA bacteriano

- Genes compostos de DNA dispostos em uma longa série em um cromossomo;
- Molécula única de DNA bifilamentar em forma de fita circular;
- Plasmídios – elementos extras de DNA, circulares, menores que o genoma principal



Replicação DNA bacteriano

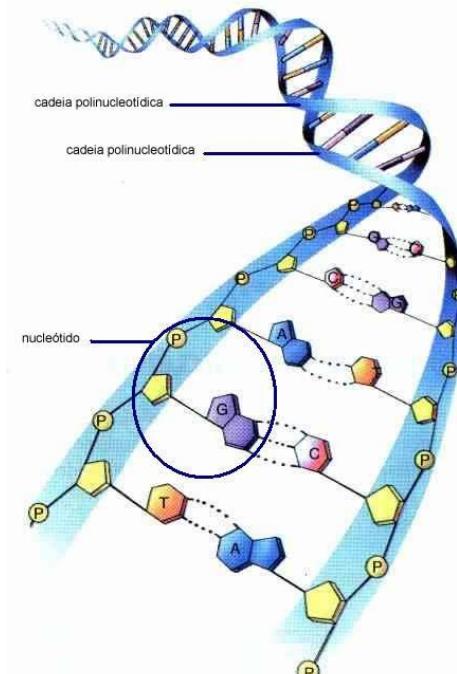
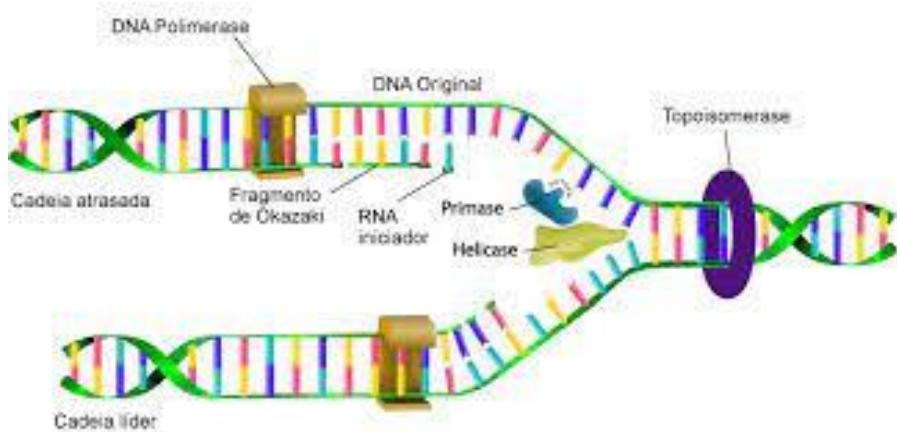
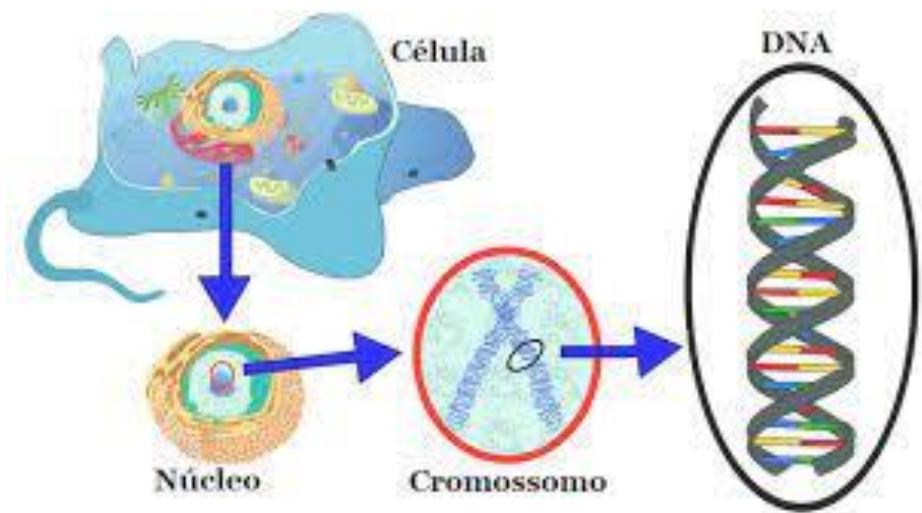
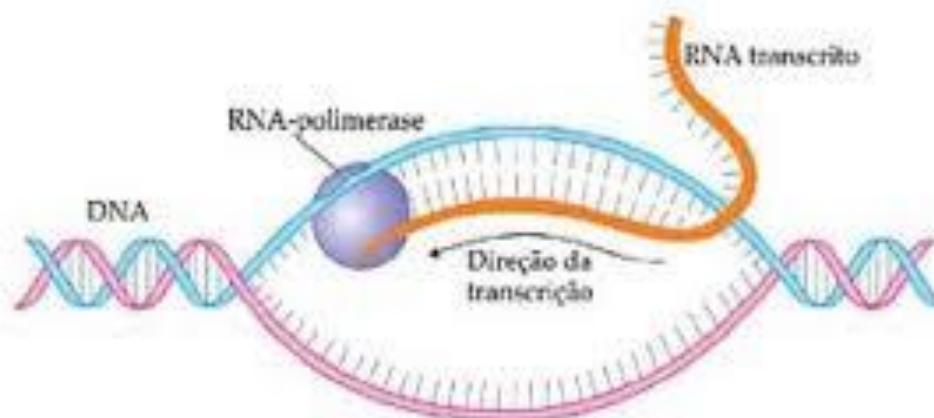
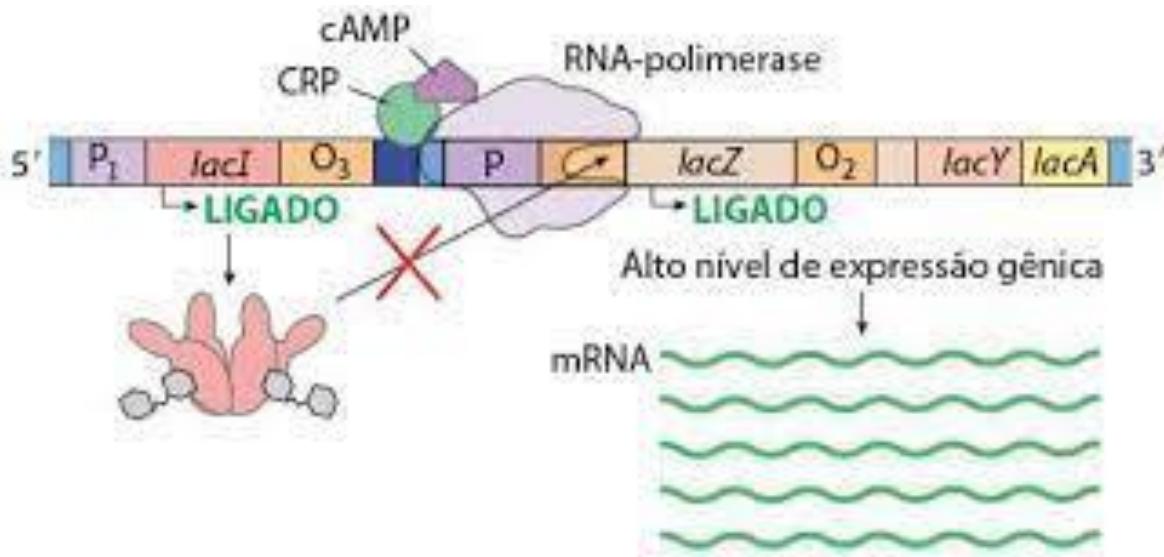


FIG. 1 ADN - (composto por duas cadeias polinucleotídicas que, por sua vez, estas são formadas por inúmeros nucleotídos)

Regulação de proteínas e transcrição de RNA m



Mutações em bactérias

- Benéfica/ maléfica
- Resistência a antibióticos
- Raios UV, medicamentos, poluentes , cigarro

Seqüência normal	ACA	ATG	CAA	CGA	CAA			
	Thr	Met	Gln	Arg	Gln			
Troca de um par de bases	ACG	ATG	CAA	CGA	CAA			
Sem a troca do aminoácido	Thr	Met	Gln	Arg	Gln			
Com a troca do aminoácido	ATA	ATG	CAA	CGA	CAA			
	Ileu	Met	Gln	Arg	Gln			
Mutação para um códon de término	ACA	ATG	TAA	CGA	CAA			
	Thr	Met						
Inserção de 1 base	ACA	GAT	GTA	ACG	ACA	A		
	Thr	Asp	Val	Thr	Thr			
Perda de 1 base	ACA	ATC	AAC	GAC	AA			
	Thr	Ileu	Asn	Asp				
Inserção de uma seqüência	ACA	ATG	AGG	GGG	CTA	CAA	CGA	CAA
	Thr	Met	Arg	Gly	Leu	Gln	Arg	Gln

Transferência do Material Genético

Troca de genes entre duas moléculas de DNA para formar novas combinações de genes em um cromossomo

- Conjugação
- Transformação
- Transdução



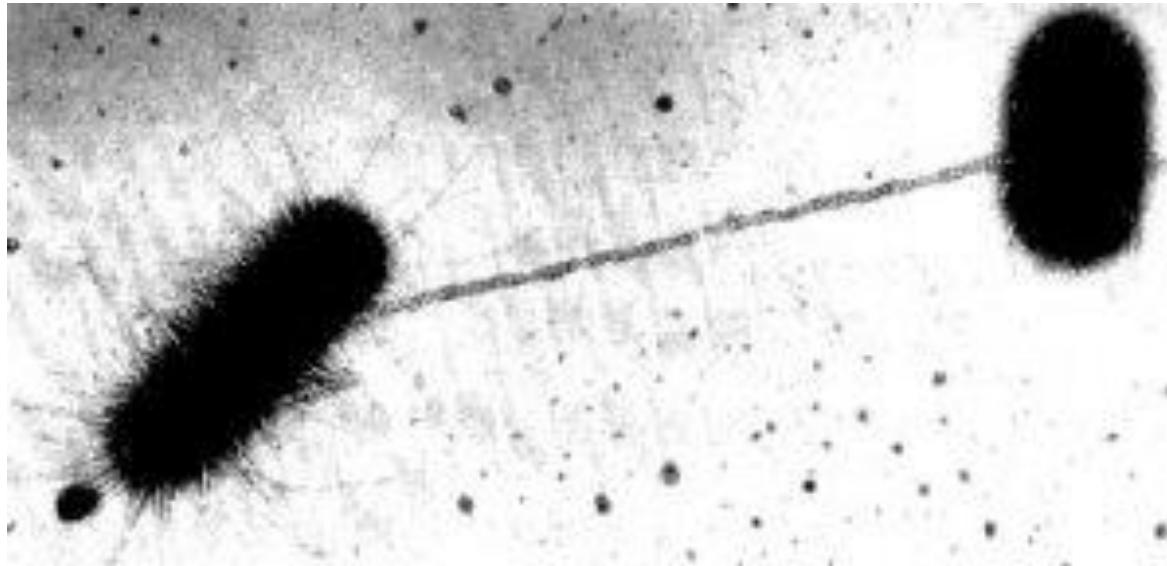
Conjugação Bacteriana

Processo onde há o contato e a fusão entre duas células bacterianas diferentes.

Após a fusão, há a transferência de DNA de modo unidirecional de uma célula (doadora) para outra célula (receptora):

Plasmídios

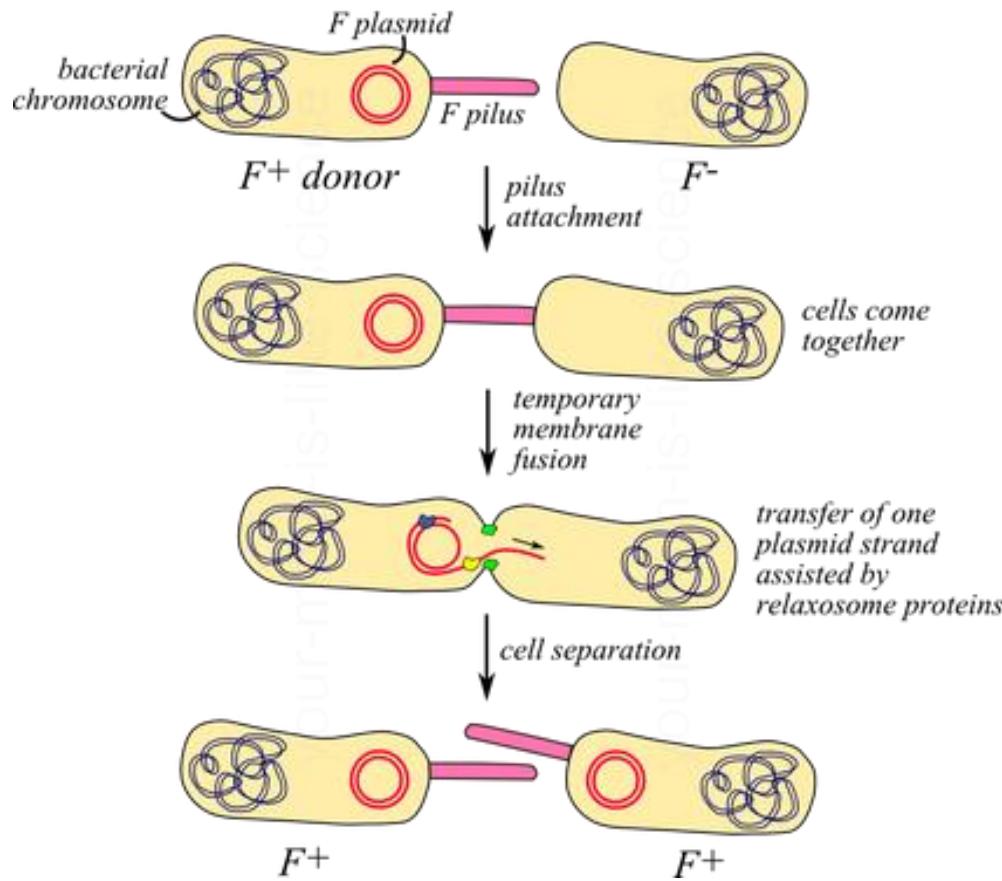
Conjugação Bacteriana



Pili sexual (Pili F)

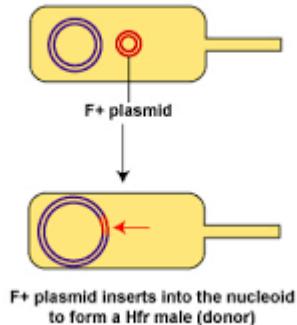
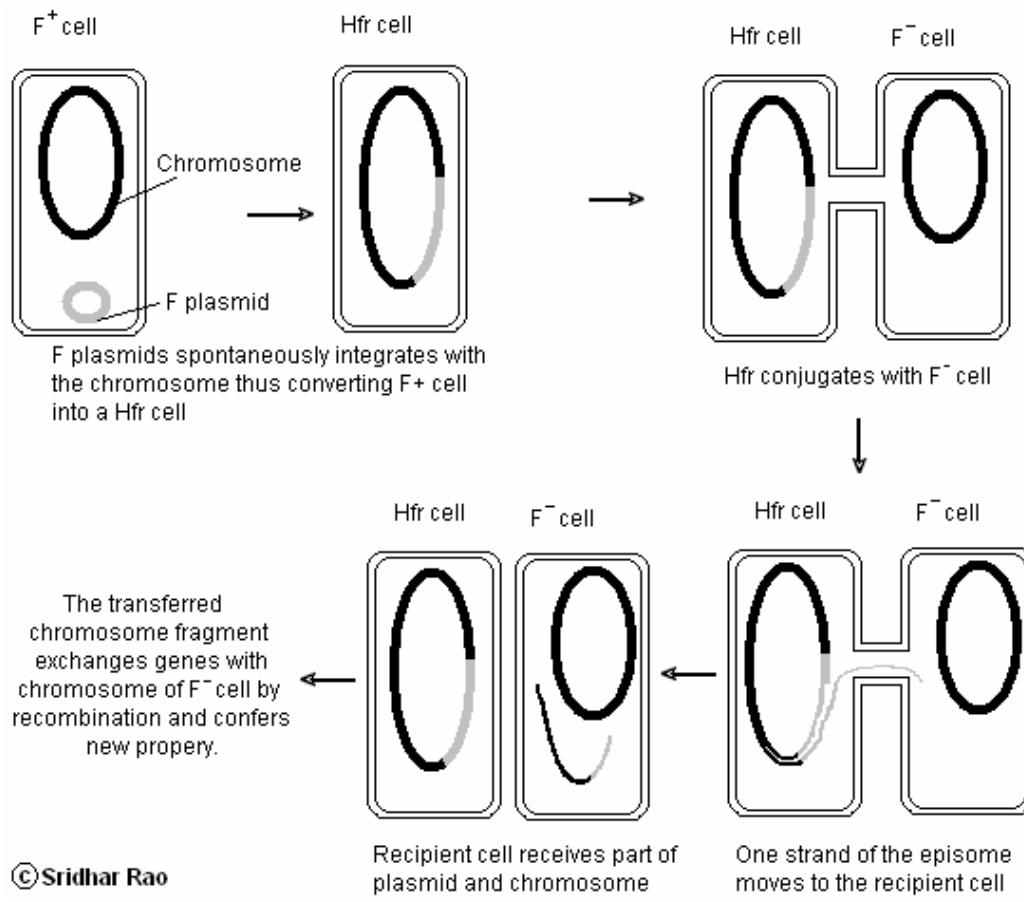
Conjugação Bacteriana

$F^+ \times F^-$



Conjugação Bacteriana

Hfr x F-

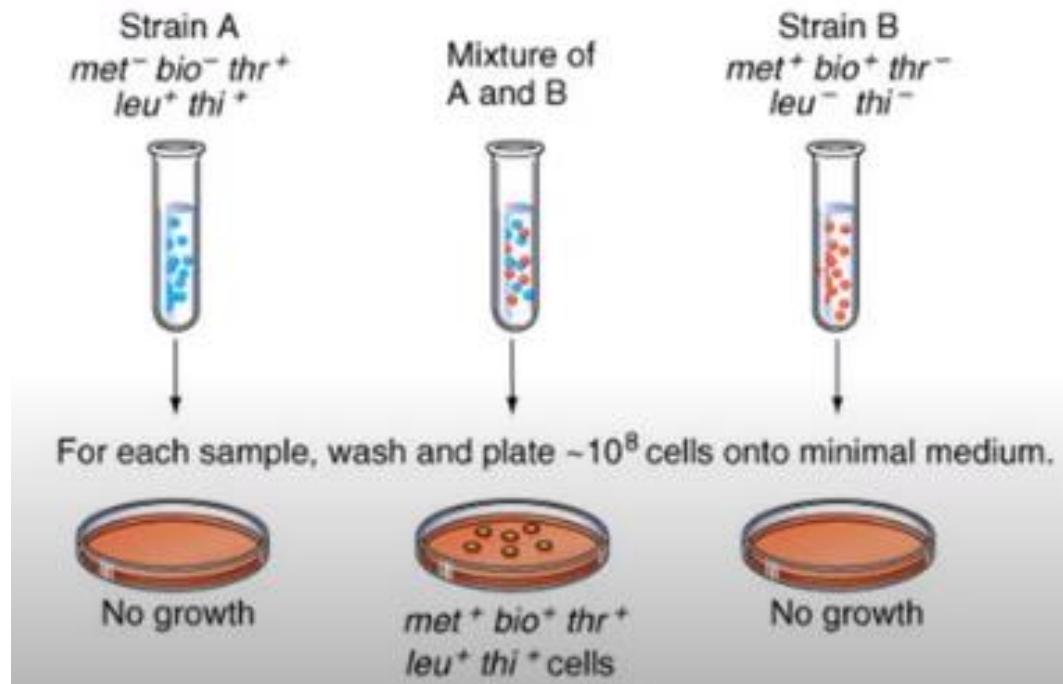


Conjugação Bacteriana

Cepas de E. coli – Demonstração de transferência de genes

Tatum and Lederberg 1947

(a) Demonstration of gene transfer



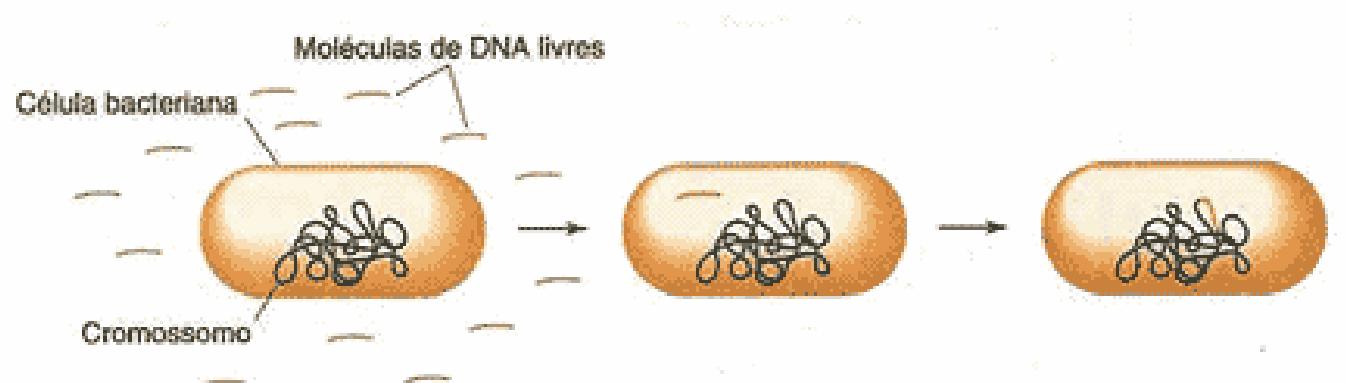
Cepa A produziu Metionina e biotina

Cepa B produziu Leucina e treonina e tirosina

Transformação Bacteriana

Processo onde há a captação de um fragmento de DNA do meio externo e incorporação desse DNA a seus próprio cromossomo.

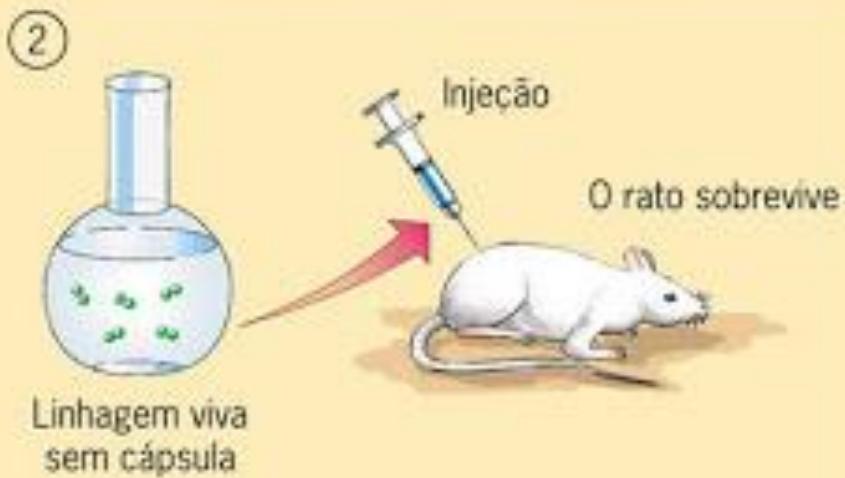
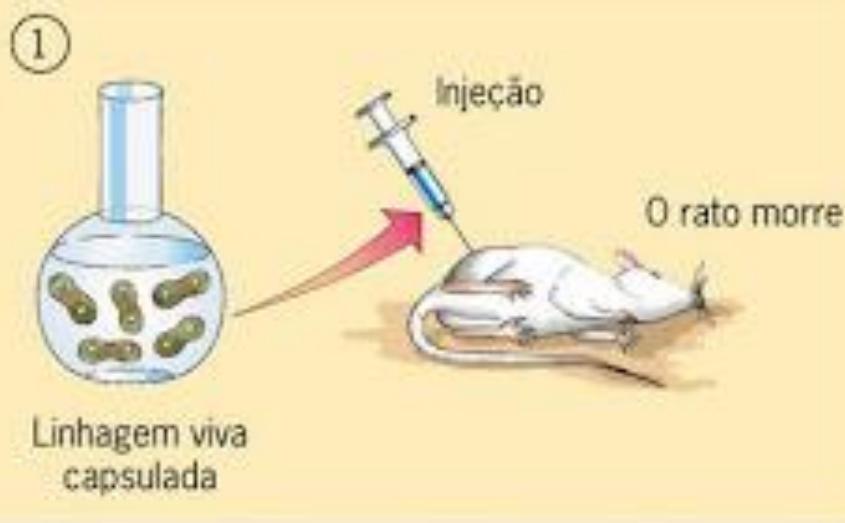
Genes da bactéria doadora são liberados no meio, após a lise, e transferidos para outra bactéria (receptora).



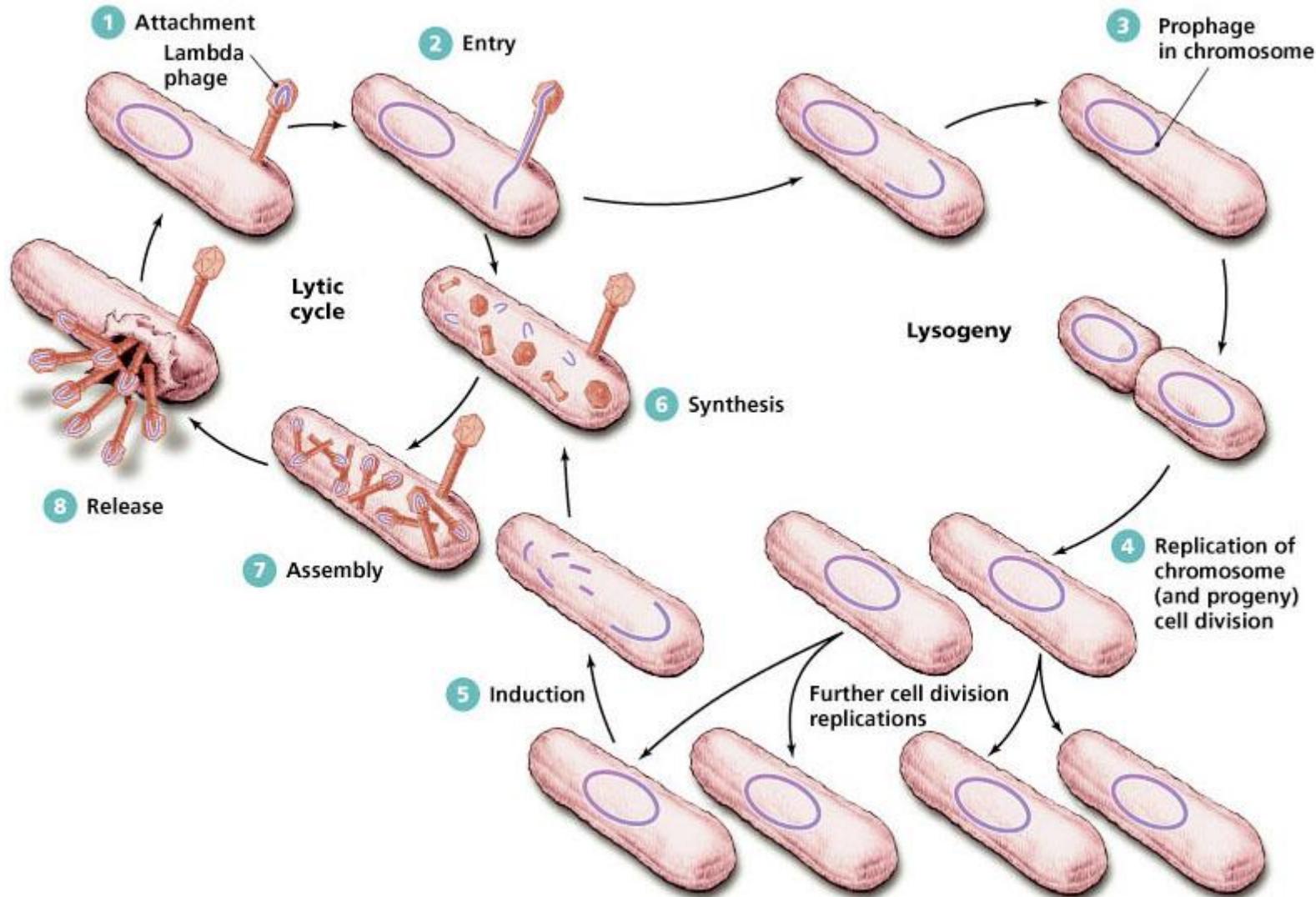
Sequencia de DNA livre acoplado

Transformação Bacteriana

Linhagens patogênicas e não patogênicas de *S. pneumoniae*

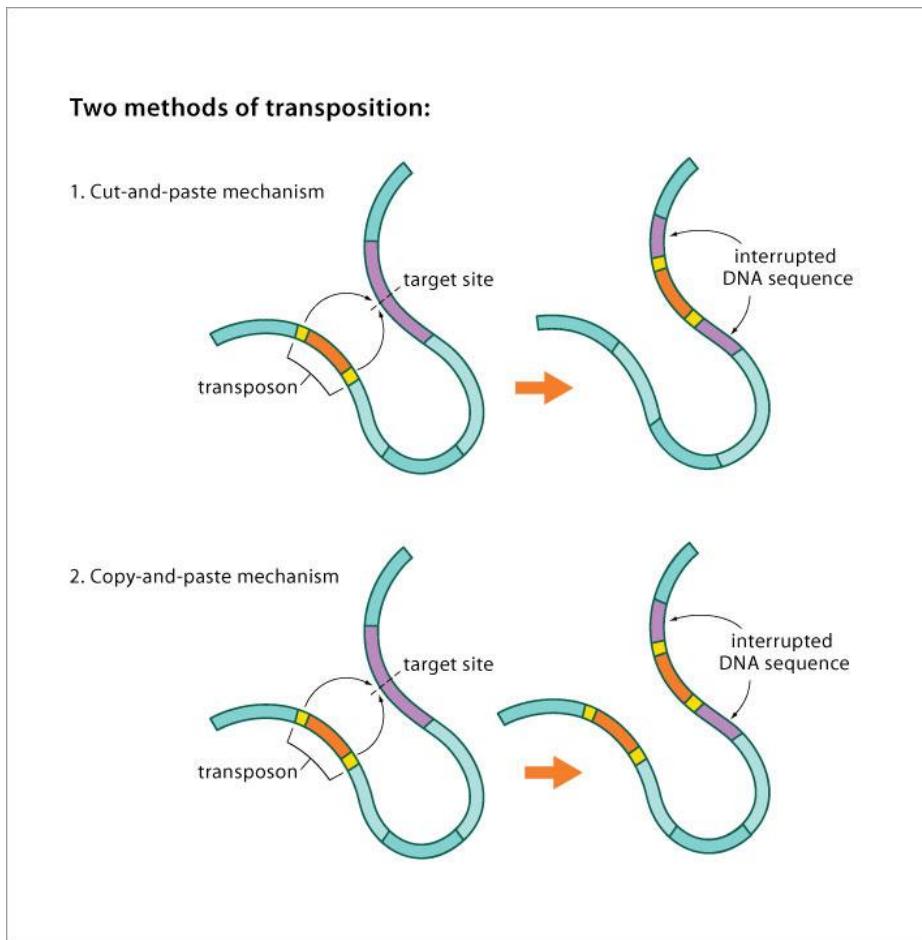


Transdução Bacteriana



Transposição – Genes saltadores (transposons)

Plasmídio para DNA
DNA p plasmídio





*Universidade Federal do Acre
Centro de Ciências, saúde e
desporto*

Microbiota humana

*Prof. Dr. Ricardo Rocha
ricardo.ufac@gmail.com*

Diversidade e ubiquidade bacteriana



- Os microrganismos são ubíquos.
- Os ecossistemas são normalmente colonizados por uma ampla e diversa **microbiota**, formada principalmente por bactérias e fungos.
- Microbiota que coloniza o corpo humano é numerosa, complexa e diversa.

Conjunto de nichos ambientais que fornece:



Nutrientes



Umidade



Calor

Diversidade e ubiquidade bacteriana

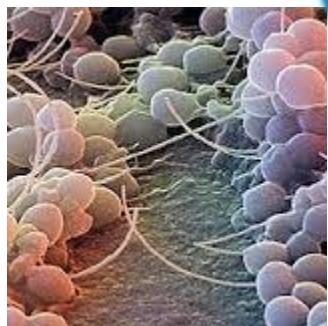
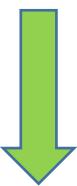
ECOSSISTEMA HUMANO

- Número de células do nosso corpo: 10 trilhões
- Número de células microbianas no nosso corpo: 10^{14}
- |
- Biomassa bacteriana no intestino humano: 1,2 kg (40 a 50% do peso fecal)

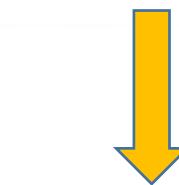
Nascidos em um ambiente repleto de micróbios, todos os animais tornam-se infectados desde o momento do nascimento e, por toda a vida, tanto o homem como outros seres vivos albergam uma variedade de espécies bacterianas.

Relações entre a microbiota e o hospedeiro

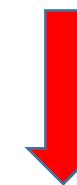
Simbiose – relação entre dois organismos na qual pelo menos um é dependente do outro



Comensalismo
Um organismo se beneficia e o outro não é afetado



Mutualismo
Ambos os organismos se beneficiam



Parasitismo
Um organismo se beneficia com prejuízo ao outro



Muitos microrganismos que fazem parte da microbiota residente

Bactérias do intestino grosso que sintetizam vitamina K – absorvidas pelos vasos sanguíneos
IG fornece nutrientes

Muitas bactérias causadoras de doenças são parasitas

Microbiota

- Os microrganismos que habitam os diversos sítios anatômicos do corpo humano e outros animais saudáveis podem ser classificados em dois grupos:



Microbiota residente
(autóctone, indígena ou
“normal”)

**Microbiota
transitória**
(transiente ou alóctone)



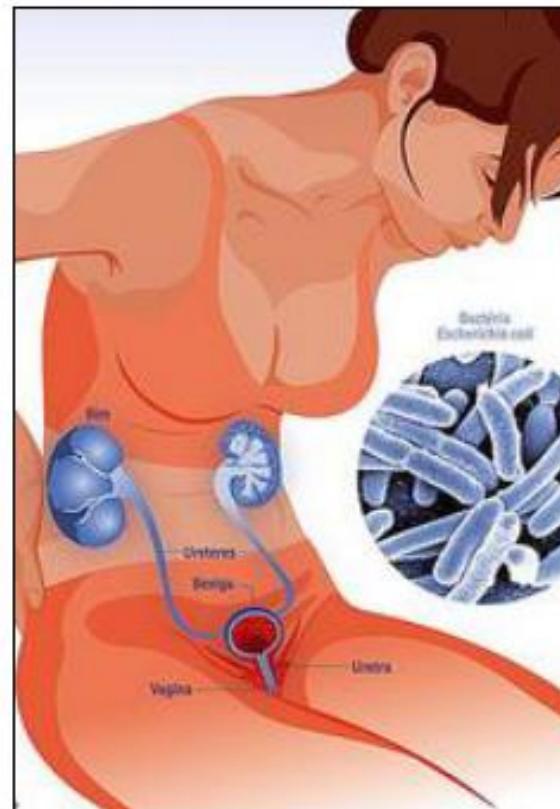


Microbiota residente (autóctone, indígena ou “normal”)

- Microrganismos encontrados com regularidade em determinada área, quase sempre em altos números
- Não produzem doença em condições normais;
- Diversificada habilidade metabólica

Funções

- Barreira contra instalação de microrganismos patogênicos
- Produção de substâncias utilizáveis pelo hospedeiro
- Degradação de substâncias tóxicas
- Modulação do sistema imunológico





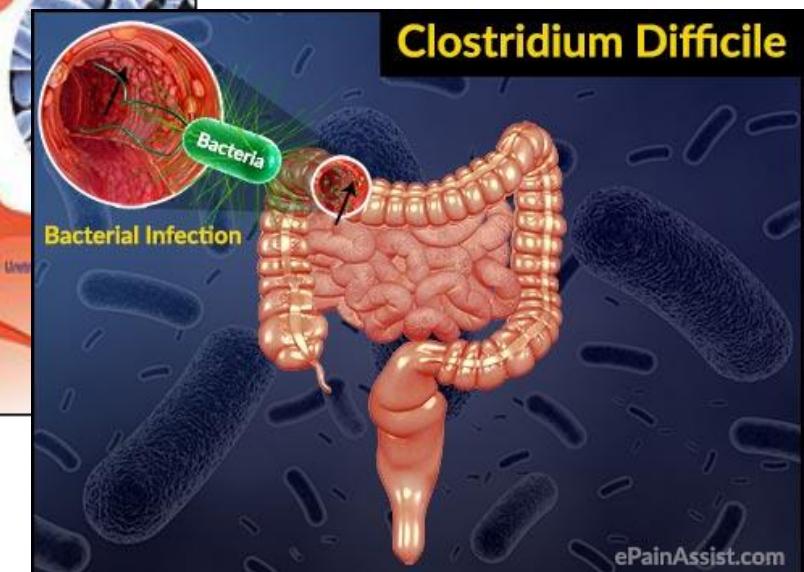
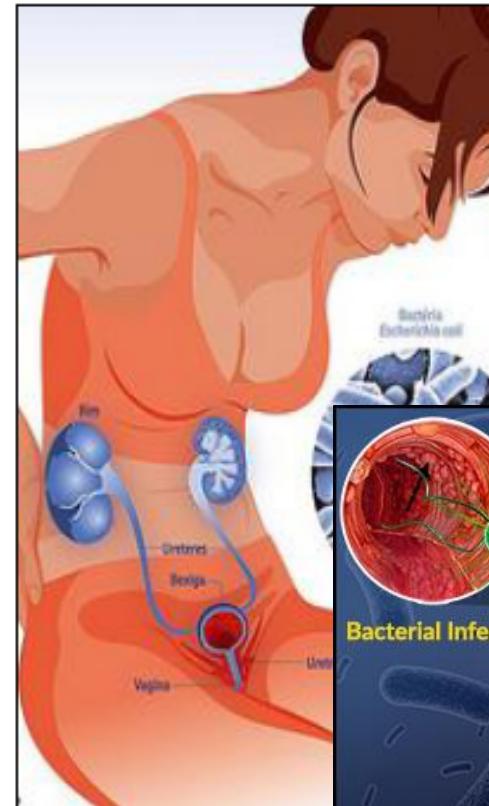
Microbiota residente
(autóctone, indígena ou
“normal”)

Caráter anfibiônico

Microrganismos podem se comportar como patógenos oportunistas, em situações de desequilíbrio ou ao serem introduzidos em sítios não específicos.

Ex: *E. coli* no intestino: inofensivo

E. coli no trato urinário: colonização - infecção urinária (doença)



Sucessão Microbiana Intestinal



Microrganismos da microbiota residente humana

- Frequentemente são benéficos e necessários à manutenção da saúde

Pele

Staphylococcus
Micrococcus
Propionibacterium
Corynebacterium
Streptococcus
Malassezia
Pityrosporum

Trato respiratório

Staphylococcus
Corynebacterium
Streptococcus
Hemophilus
Neisseria
Branhamella

Trato Digestivo

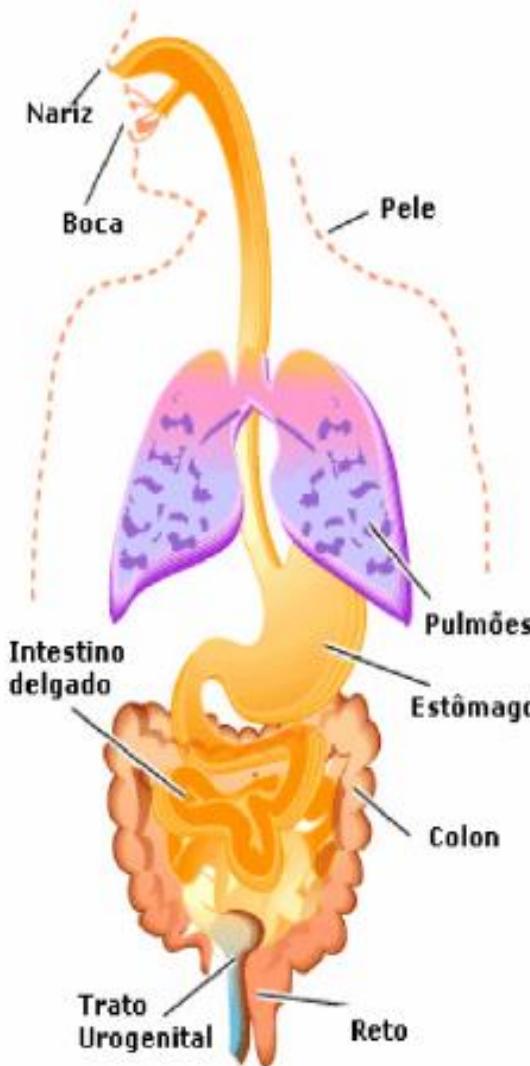
Bacteroides
Lactobacillus
Enterococcus
Escherichia coli
Proteus
Klebsiella
Enterobacter
Bifidobacterium
Citrobacter
Fusobacterium
spirochetes

Cavidade oral

Lactobacillus
Neisseria
Streptococcus
Fusobacterium
Actinomyces
Treponema
Bacteroides

Trato Urogenital

Streptococcus
Bacteroides
Mycobacterium
Neisseria
Enterobacter
Clostridium
Lactobacillus
Candida
Trichomonas



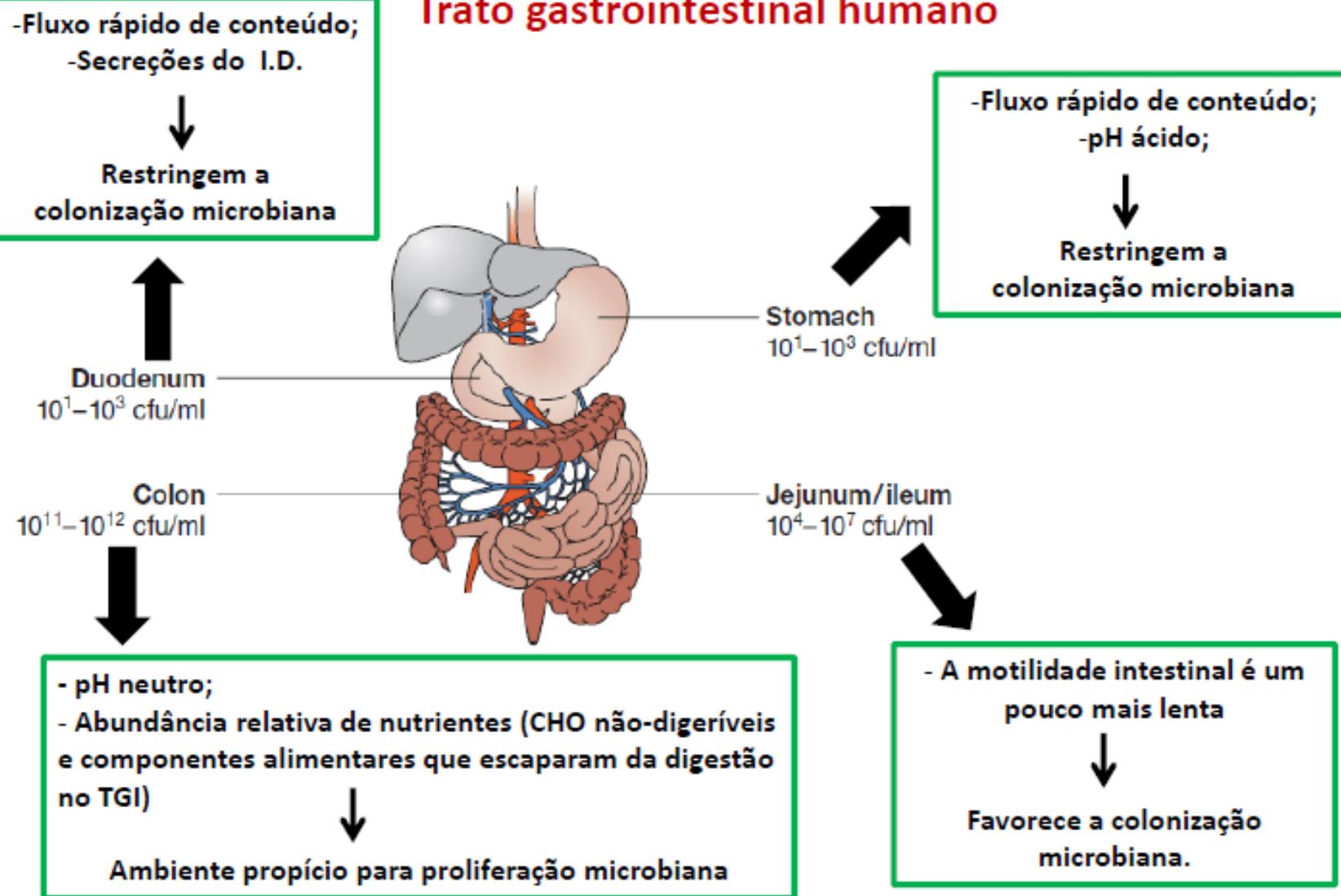
Proj Genoma Humano

Proj. Microbioma Humano

Genes de doenças- Predisposição

20 mil genes (H) – 4,4 milhões (M)

Trato gastrointestinal humano

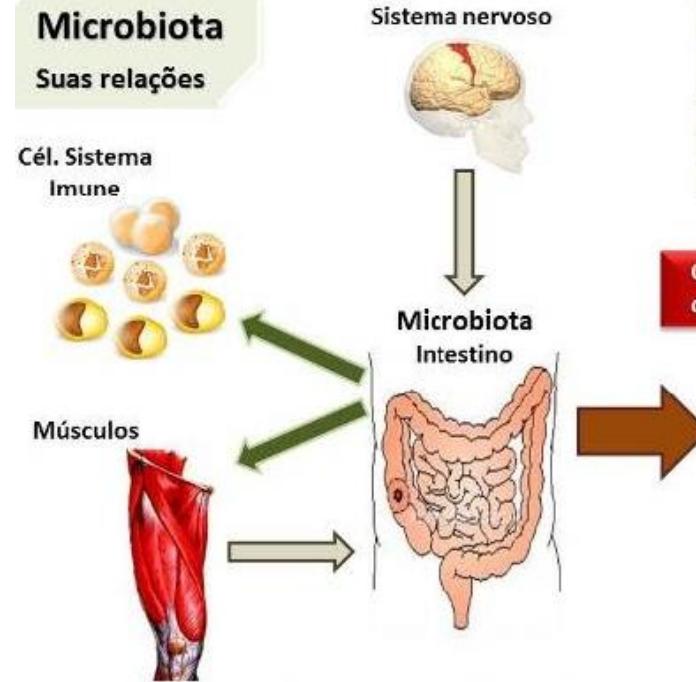


Sander et al., 2007

O QUE INTERFERE NO EQUILÍBrio DA MICROBIOTA?



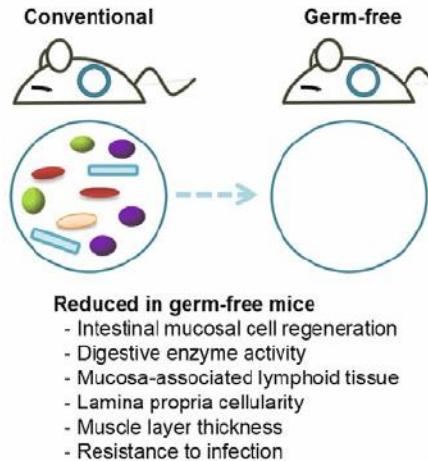
Microbiota Suas relações



- | |
|---|
| Influência da Microbiota
Função imune
Metabolismo |
| Influência na Microbiota
Músculos (exercício)
Sist. Nerv. Autônomo |

Consequências do desequilíbrio da Microbiota

- Inflamação sistêmica
- Obesidade
- Diabetes tipo 2
- Doença de Crohn (inflamação no intestino)
- Síndrome da vesícula irritável
- Câncer do cólon
- Doenças do sistema nervoso



Prevotella (fibras)
Xylanbacter (fibras)
Bacteriodetes (magros)
Firmicutes (gordos)
Arkkemansia (muco)
LPS- inflamação
Lactobacillus (oligossacarídeos)

Autismo, depressão, ansiedade



A high-magnification scanning electron micrograph (SEM) showing several green, rod-shaped bacteria (likely Pseudomonas) colonizing a dark, textured surface with a honeycomb-like pattern. Some bacteria are shown in cross-section, revealing their internal structure.

Epidemiologia Patogenicidade e virulência bacteriana

O resultado da relação bactéria-hospedeiro depende da:

Patogenicidade do microrganismo

Resistência do hospedeiro

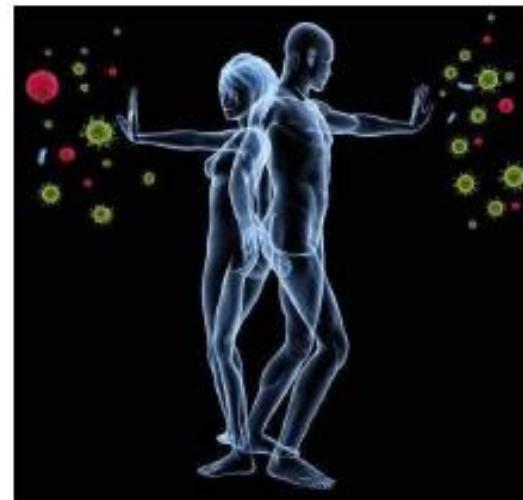
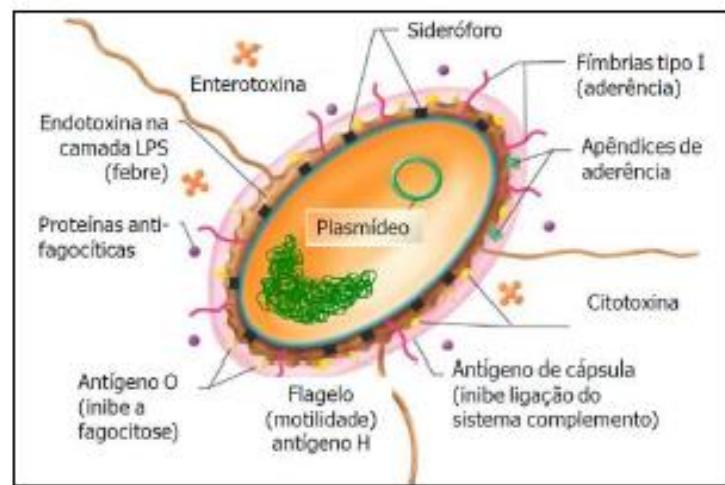


X

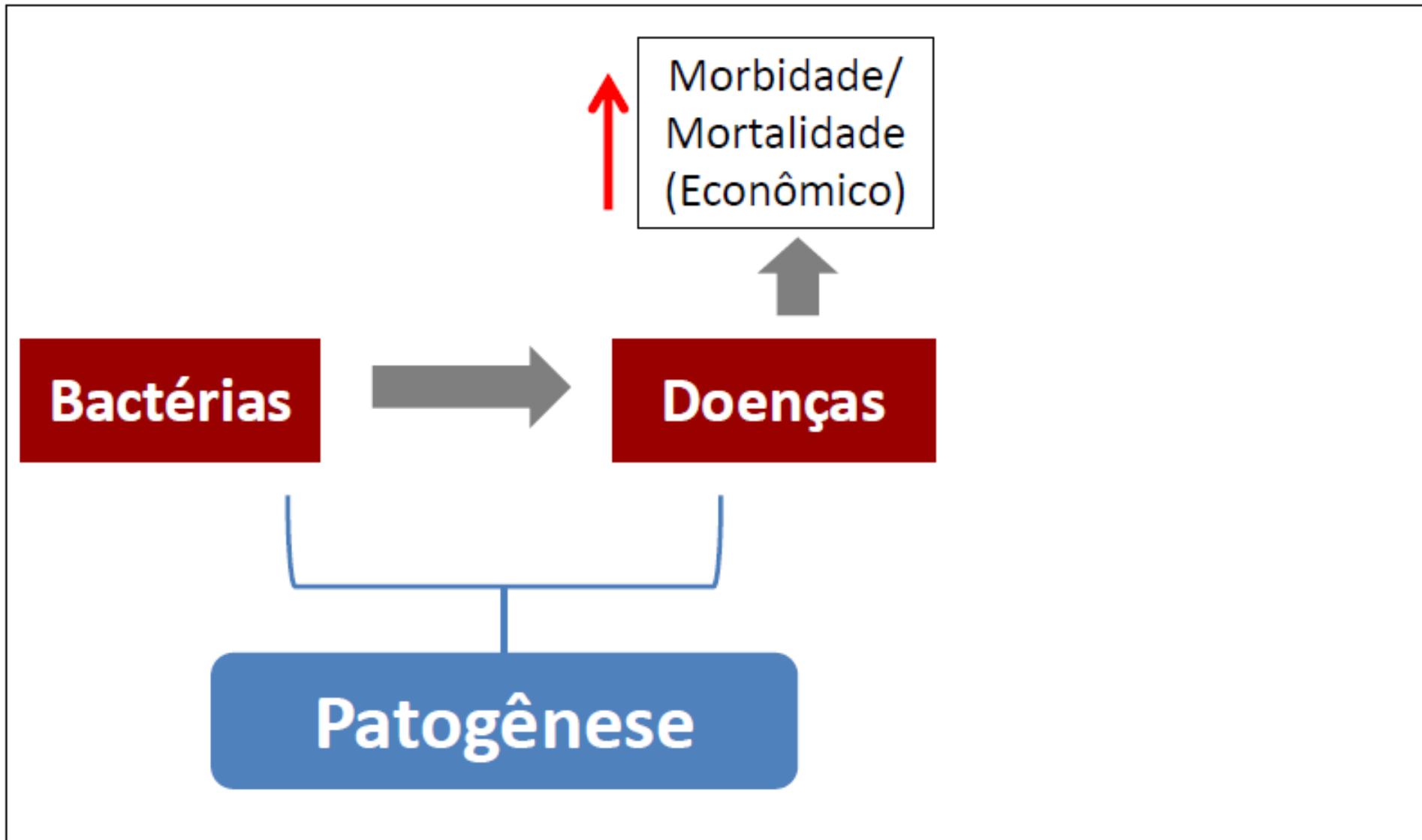


Fatores de virulência

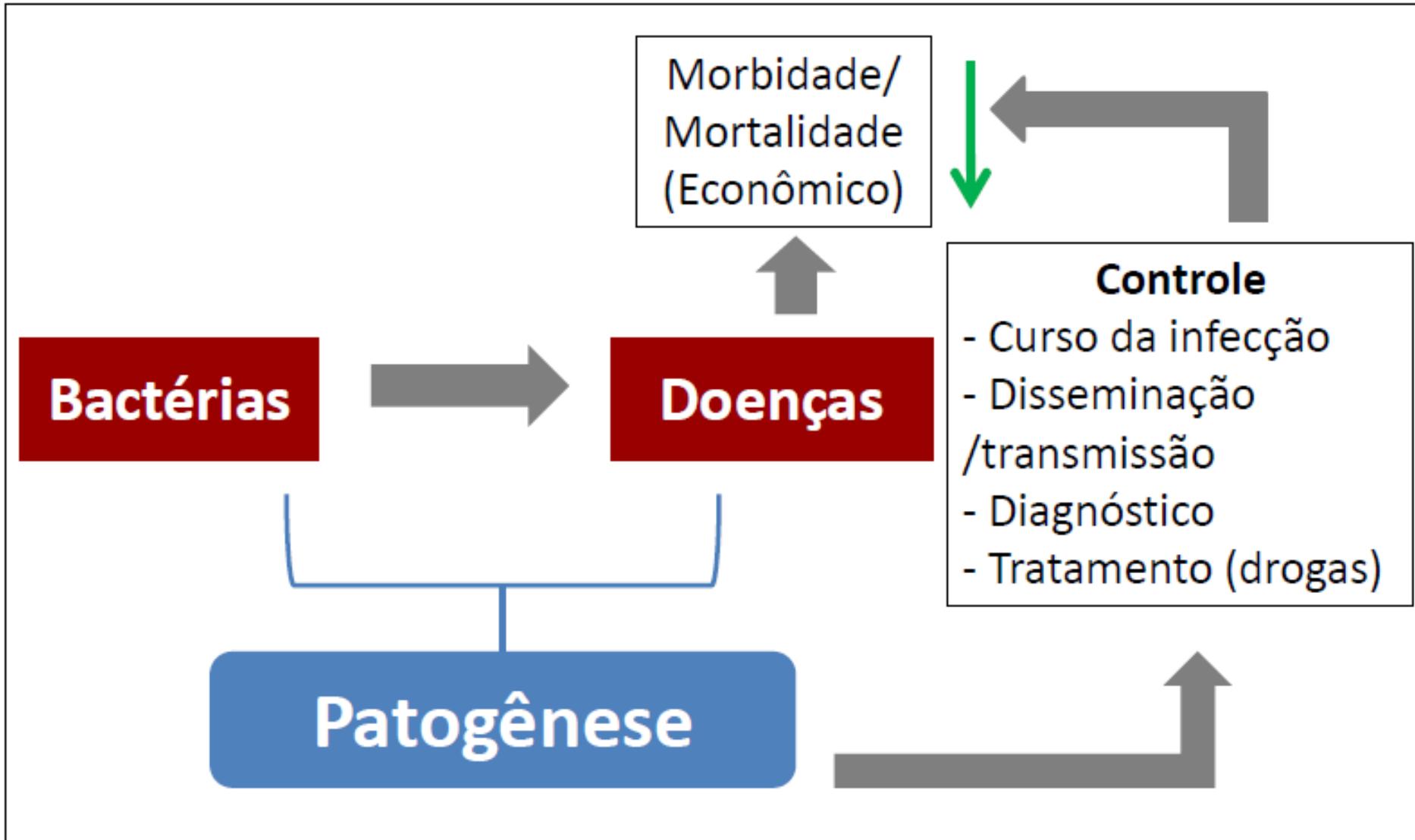
Mecanismo de defesa



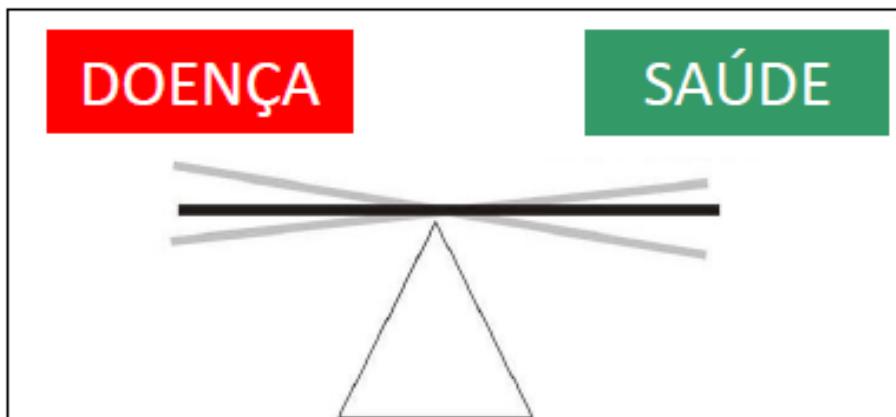
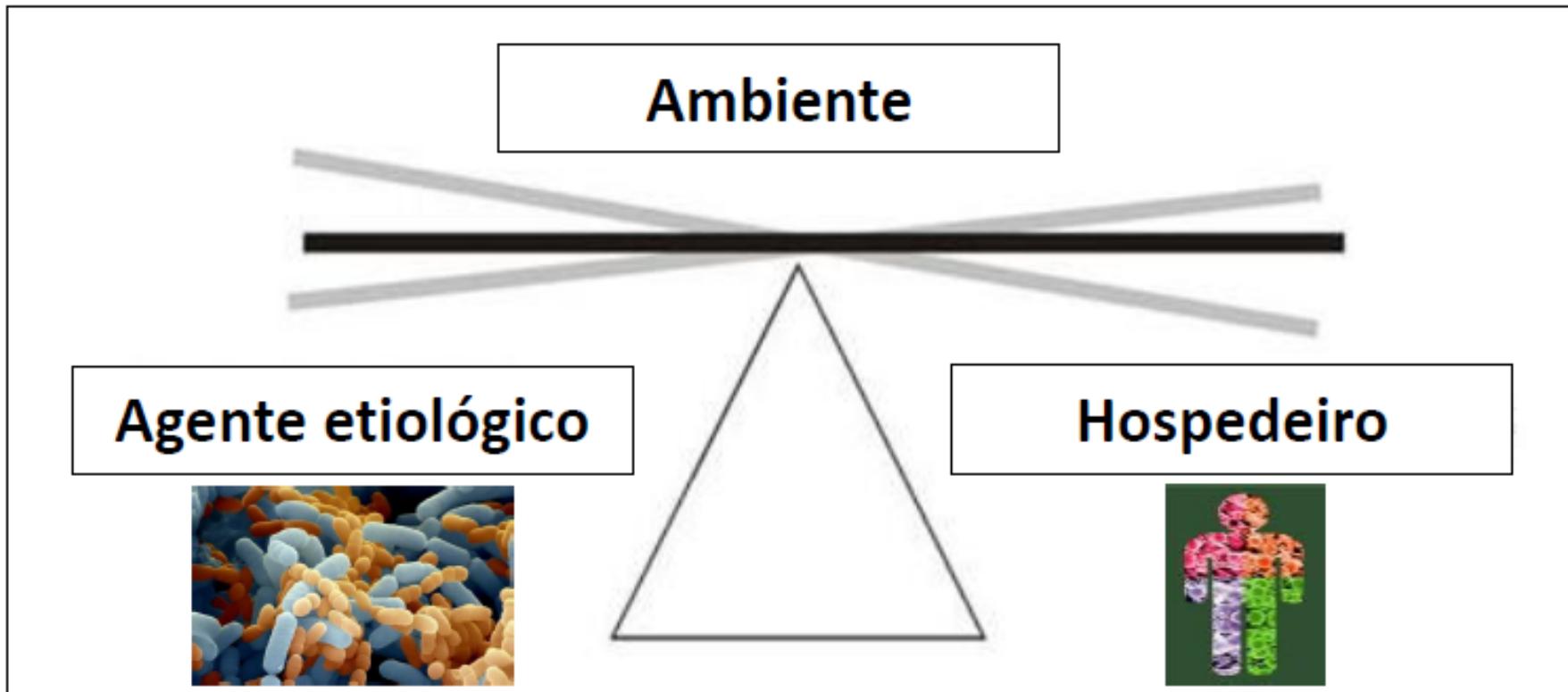
Qual a importância de se conhecer a patogênese das doenças bacterianas?



Qual a importância de se conhecer a patogênese das doenças bacterianas?



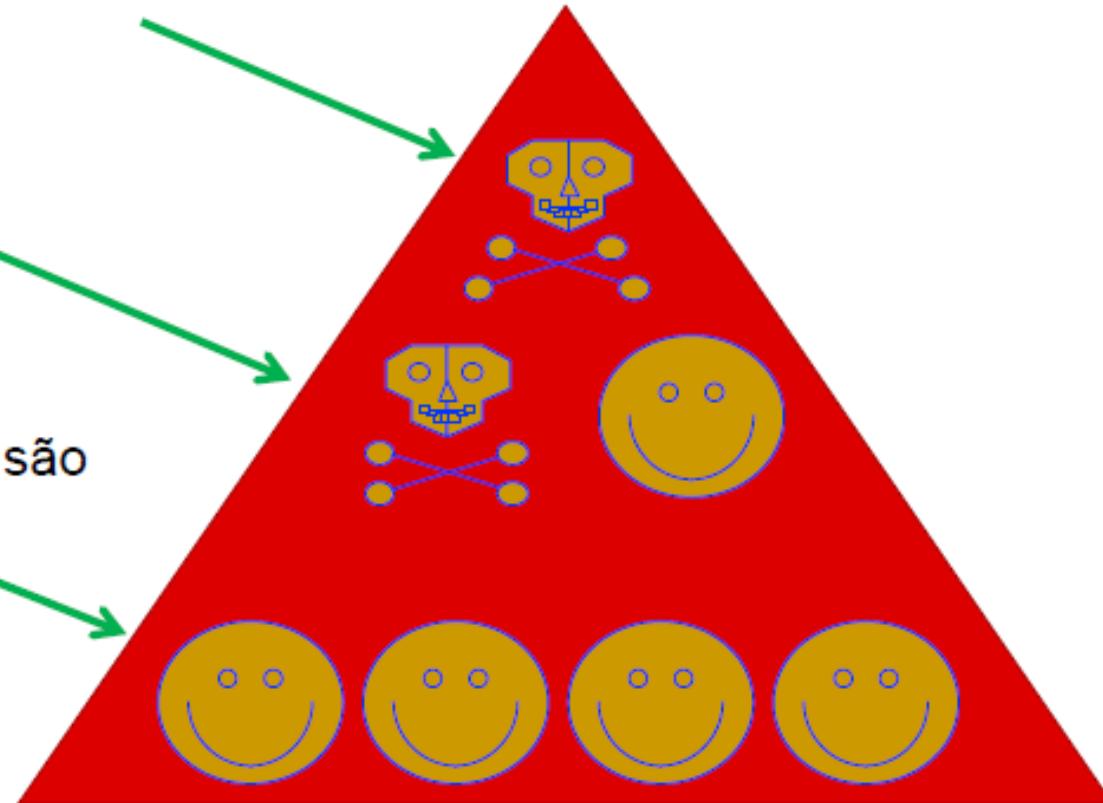
Elementos envolvidos no processo saúde-doença

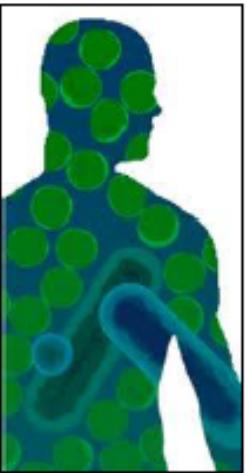


Pouquíssimos micro-organismos
são sempre patogênicos

Alguns micro-organismos são
potencialmente patogênicos

Maioria dos micro-organismos são
não patogênicos



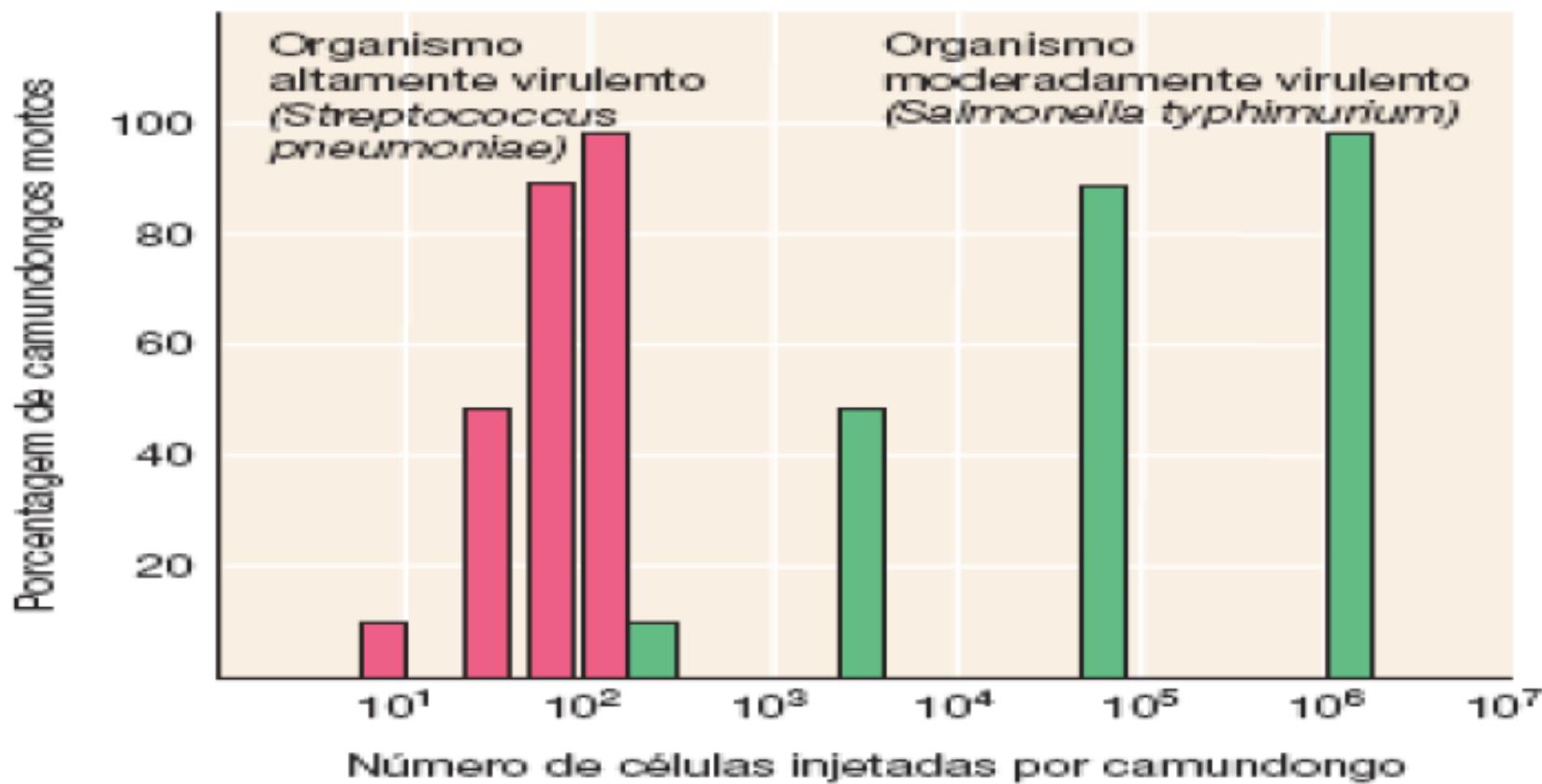


**Um microrganismo é um patógeno
se for capaz de causar doença**



Patogenicidade – propriedade de um microrganismo provocar alterações fisiológicas no hospedeiro, ou seja, capacidade de produzir doença.

Virulência – Grau de patogenicidade, determinada pelos fatores de virulência expressos pelas células.



- ✓ Virulência expressa como **DI 50: Dose Infecciosa para 50% dos animais de um grupo teste.**

Ex. *Bacillus anthracis*

DI 50 pele = 10 a 50 esporos

DI 50 inalado = 10 a 20 mil esporos

DI 50 ingerido = 250 mil a 1 milhão de esporos

DL50 de Diferentes Toxinas / Venenos

BoNT-A	0,001 micrograma/ kg (1 nanograma/ kg)	Arsênico	15 mg/ kg
Cólera	250 micrograma/ kg	Gás Sarin	100 mg / m ³
Difteria	0,1 micrograma/ kg		
Pertussis	15 micrograma/ kg		
Tétano	0,001 micrograma/ kg		
Tetrodotoxina	8 micrograma/ kg		
Yersinia pestis	15 micrograma/ kg		

1 nanograma = 1 milionésimo de miligrana (i.e., 1 mg/ 1.000.000)

A BoNT-A é o mais poderoso veneno-toxina conhecido!

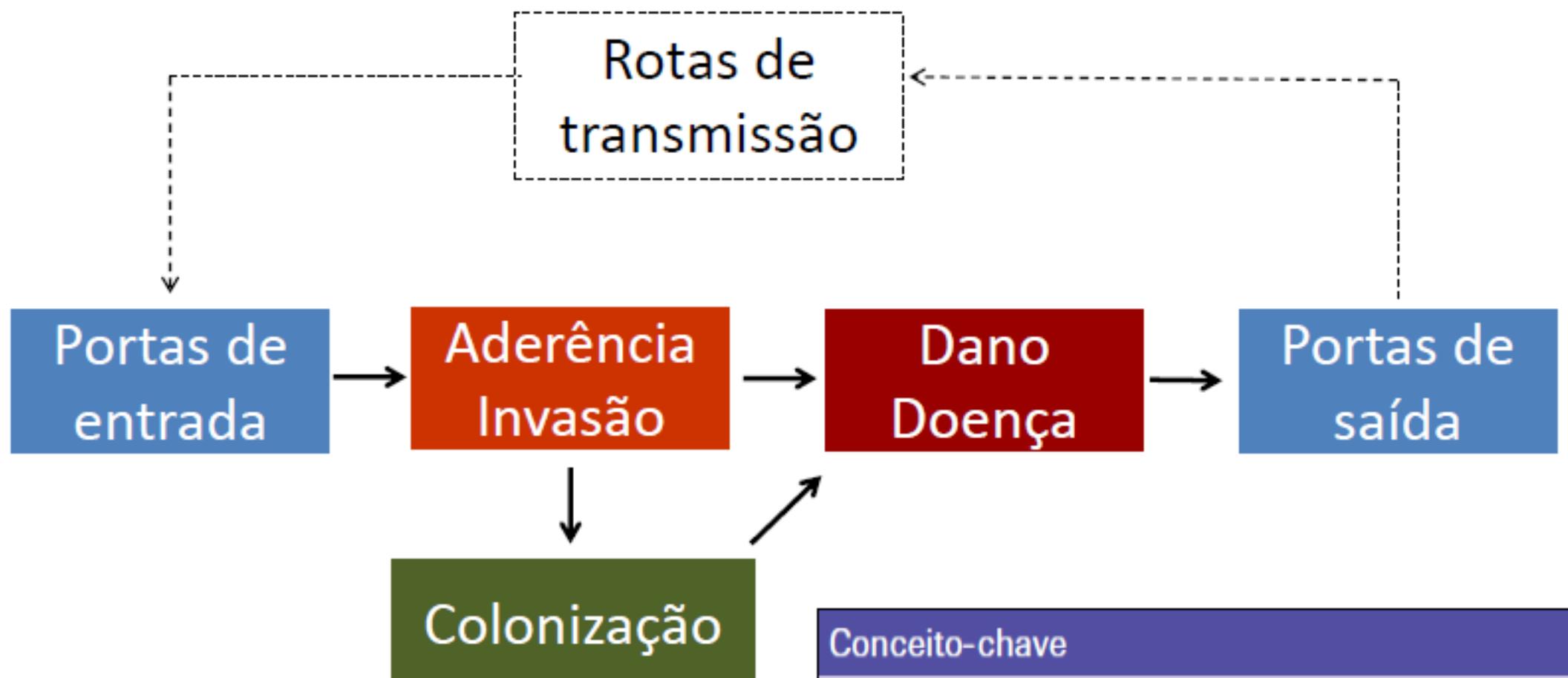
1 mg de BoNT-A seria suficiente para matar mais de 14.000 pessoas!

Dose letal de BoNT-A para um ser humano adulto: cerca de 70 ng, ou 15 frascos

<http://www.ehs.ufl.edu/Bio/toxin.htm>



Mecanismos bacterianos de patogenicidade



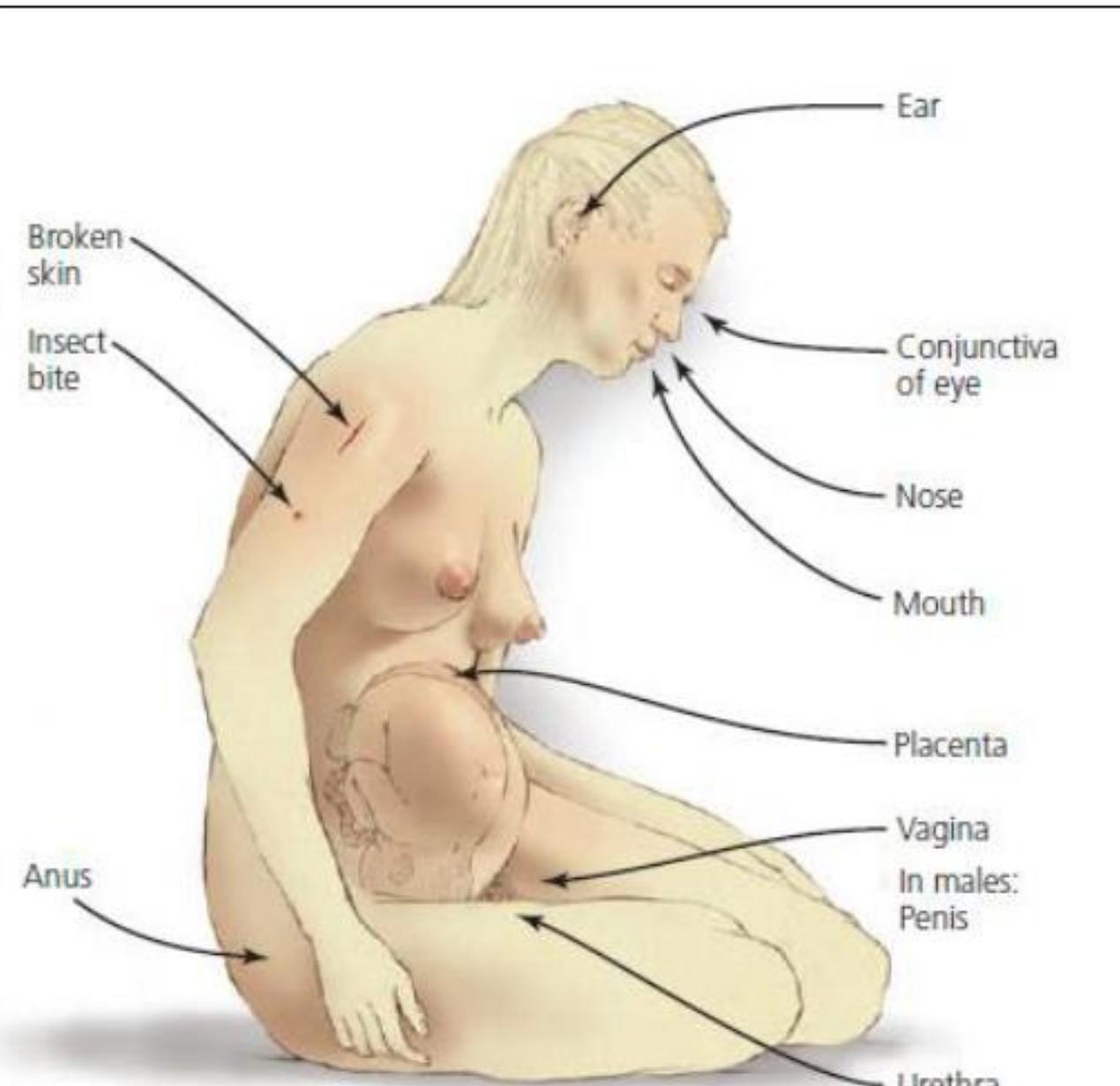
Conceito-chave

Diversos fatores são necessários para que um micrório cause doença. Após sua entrada no hospedeiro, a maioria dos patógenos se adere aos tecidos do organismo, penetra ou evade suas defesas e danifica seus tecidos. Os patógenos normalmente deixam o hospedeiro por portas de saída, que geralmente são os mesmos.

Para ter sucesso no processo infeccioso

- ✓ Adquirir genes de virulência;
- ✓ Sentir o ambiente
- ✓ Ligar e desligar (on/off) genes de virulência
- ✓ Deslocar-se para o local da infecção
- ✓ Fixar-se no local da infecção
- ✓ Conseguir nutrientes (especialmente o Ferro)
- ✓ Sobreviver ao *stress* no local da infecção
- ✓ Evitar sistema imune (fugir deste)
- ✓ Suportar as defesas do organismos e revidar a isto
- ✓ Provocar lesões no tecido hospedeiro
- ✓ Interferir com sistema de sinalização e citoesqueleto da células do hospedeiro
- ✓ Dispersão para células e orgãos

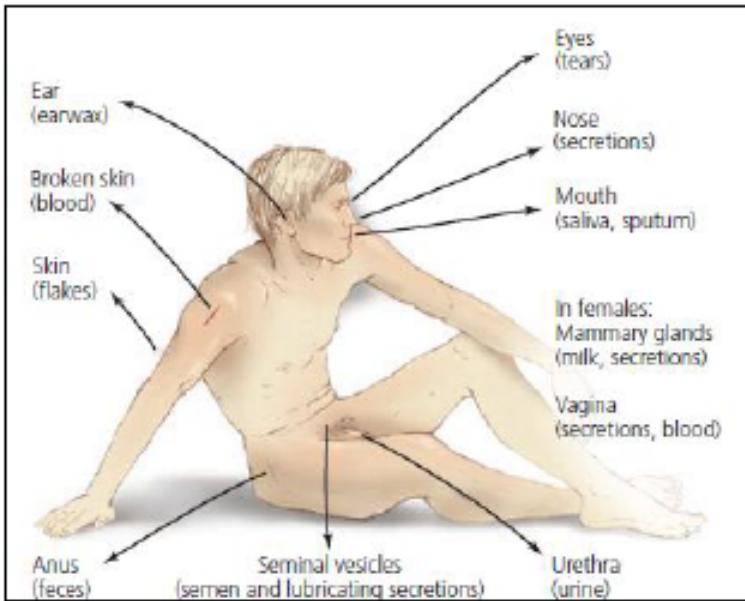
Portas de entrada



Portas de entrada

Membranas mucosas
Trato respiratório
Trato gastrintestinal
Trato geniturinário
Conjuntiva
Pele
Via parenteral

Portas de saída



- Secreções, excreções ou tecidos que descamam
- Geralmente é a mesma da porta de entrada
- Trato respiratório, gastrintestinal, geniturinário e pele
- Várias portas de saída – podem disseminar entre hospedeiros susceptíveis

Rotas de transmissão

Portas de entrada

Portas de saída

Portas de entrada

Bactéria	Doença
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Pneumonia pneumocócica
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Tuberculose
<i>Bordetella pertussis</i>	Coqueluche

Portas de entrada

Bactéria	Doença
<i>Vibrio chlooreae</i>	Cólera
<i>Salmonella enterica</i>	Salmonelose
<i>Escherichia coli</i>	Gastroenterites

Portas de entrada

Bactéria	Doença
<i>Vibrio chloreae</i>	Cólera
<i>Salmonella enterica</i>	Salmonelose
<i>Escherichia coli</i>	Gastroenterites

Portas de entrada

Bactéria	Doença
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Gonorréia
<i>Treponema pallidum</i>	Sífilis
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Uretrite

Portas de entrada

Bactéria	Doença
<i>Clostridium tetani</i>	Tétano
<i>Rickettsia rickettsii</i>	Febre maculosa
<i>Leptospira interrogans</i>	Leptospirose

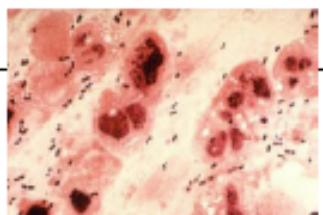
Portas de entrada

Bactéria	Doença
<i>Clostridium tetani</i>	Tétano
<i>Rickettsia rickettsii</i>	Febre maculosa
<i>Leptospira interrogans</i>	Leptospirose

Porta de entrada preferencial

Salmonella typhi – sinais e sintomas quando ingeridas (via preferencial); se em contato com a pele – sem colonização.

Streptococcus pneumoniae – se inalados (via preferencial) podem causar pneumonia; se ingeridos – sem colonização.

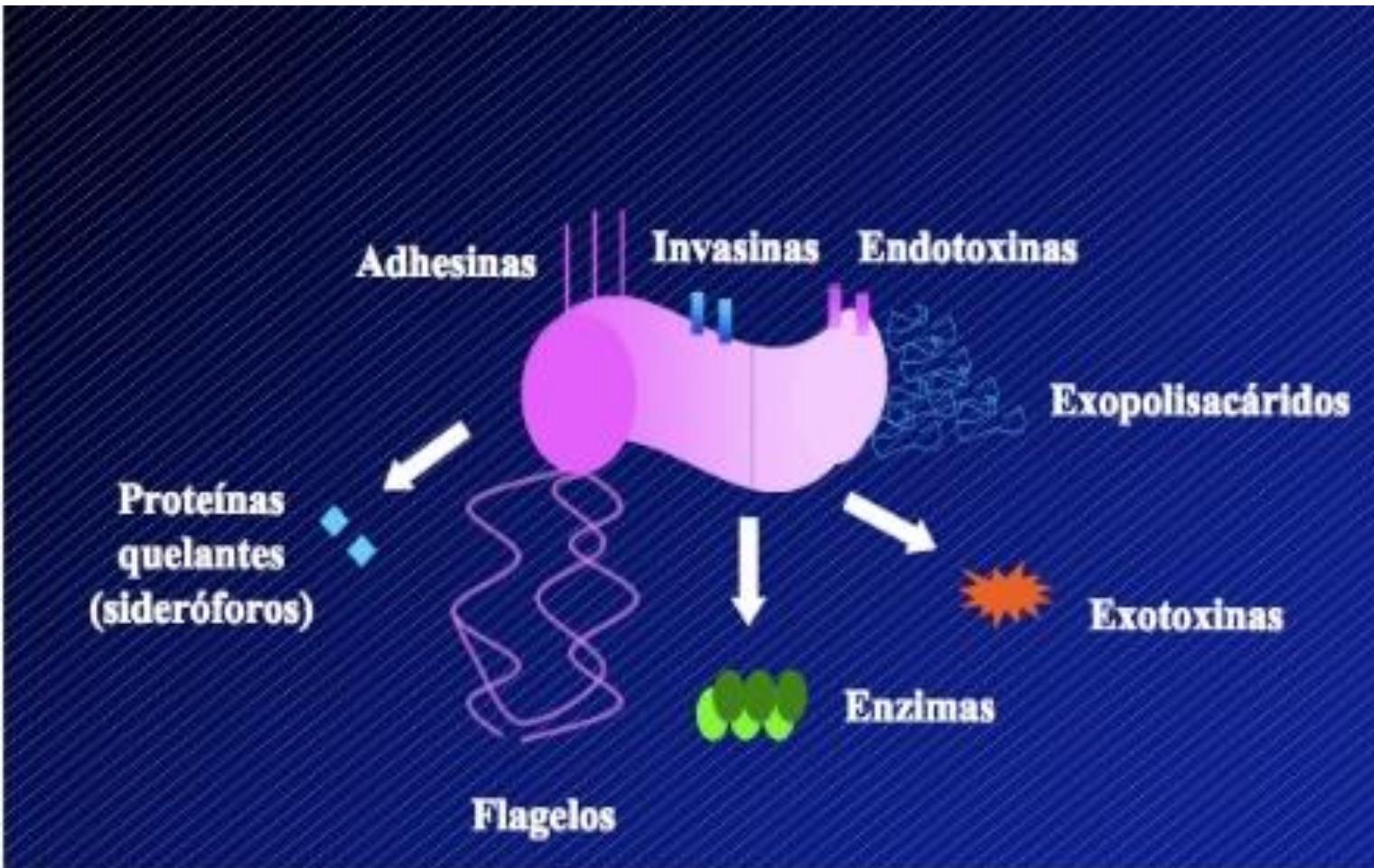


Alguns podem iniciar doença a partir de mais de uma porta de entrada. Ex: *Bacillus anthracis* (pele e inalação)



Fatores de virulência

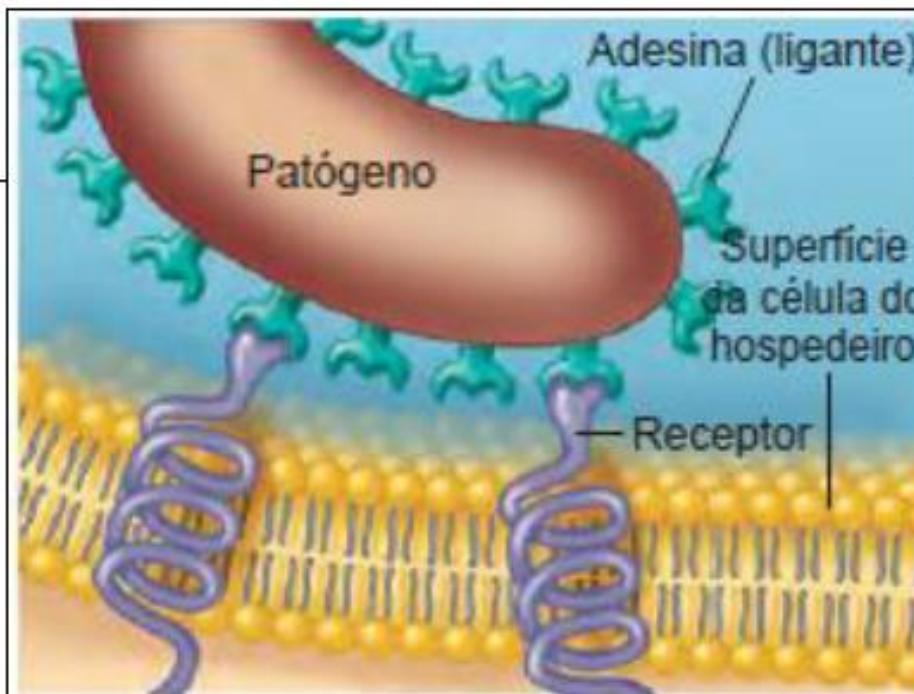
Estruturas, produtos ou estratégias que contribuem para o aumento da capacidade da bactéria de causar doença



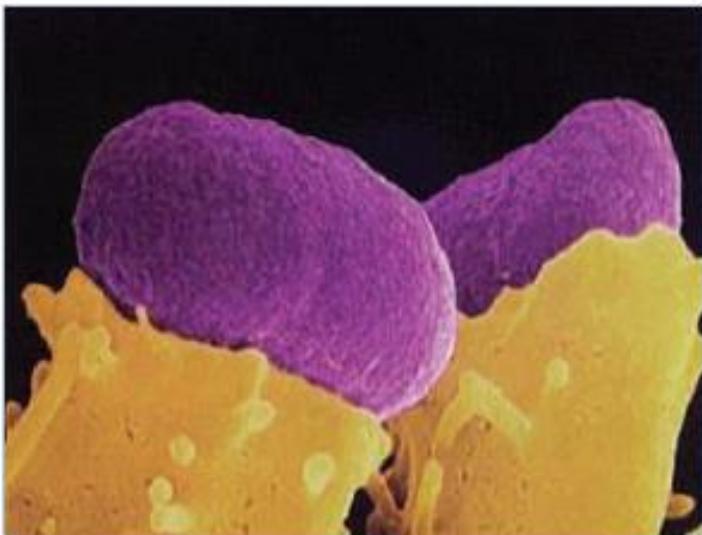
Fatores relacionados a adesão

Geralmente é específica, dependente do reconhecimento bactéria-hospedeiro

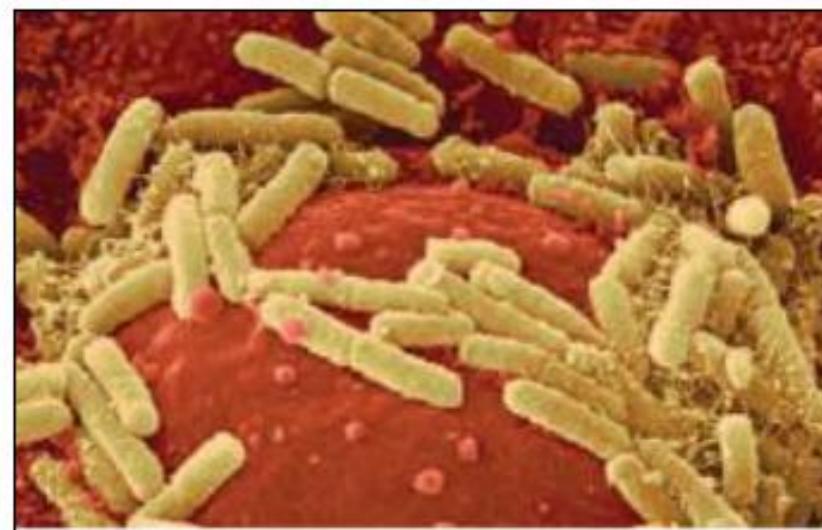
- **Adesinas** - localizadas em estruturas de superfície da célula e interagem com receptores das células do hospedeiro.



Fatores relacionados a adesão



E. coli entero-hemorrágica
O157:H7 aderida às
microvilosidades intestinais

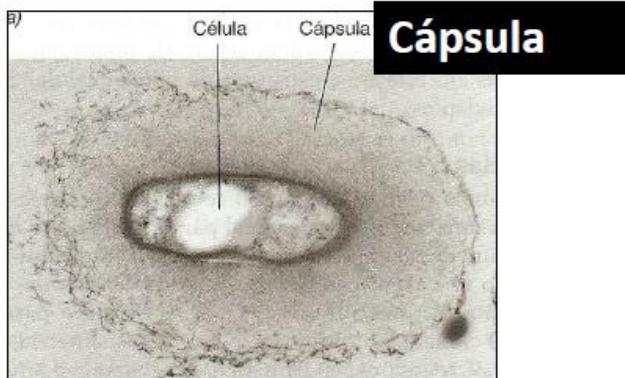


MEV 1 µm

E. coli aderida nas
células da bexiga
humana

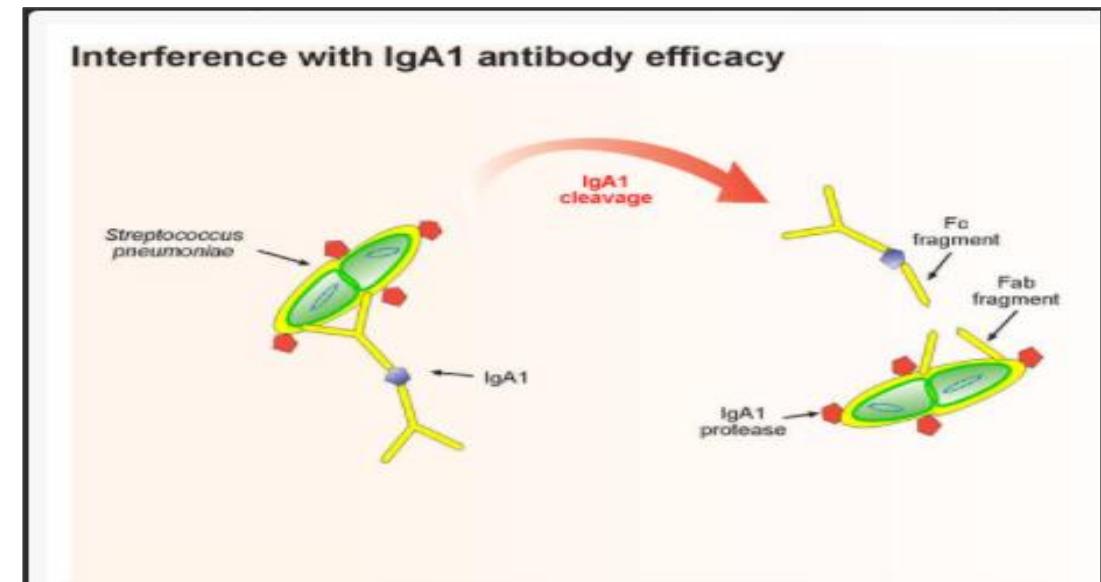
Locais dos genes de virulência:

- Ilhas de patogenicidade, plasmídeos, transposons, fagos lisogênicos
- toxinas (enterotoxina), fimbrias (urogenital) cápsula (meningite neonatal), proteases



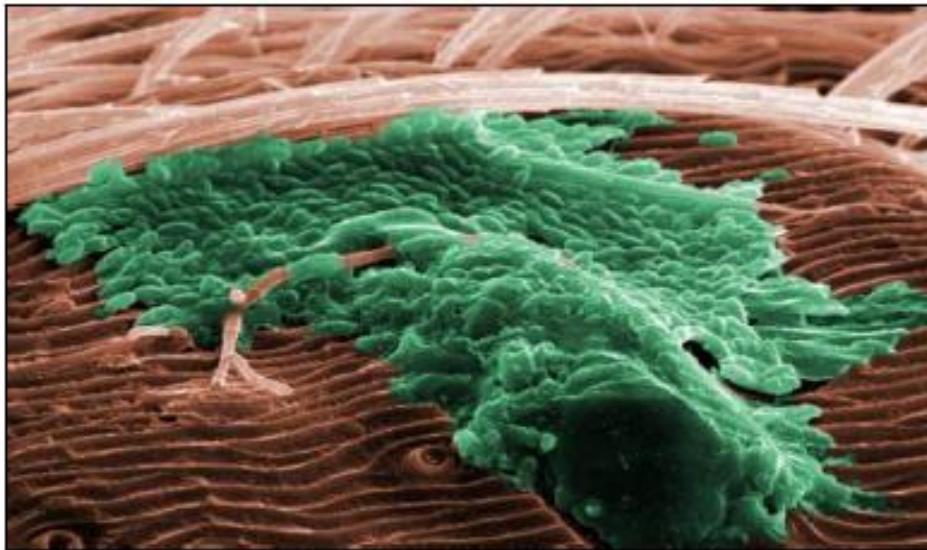
Cápsula

Fímbrias



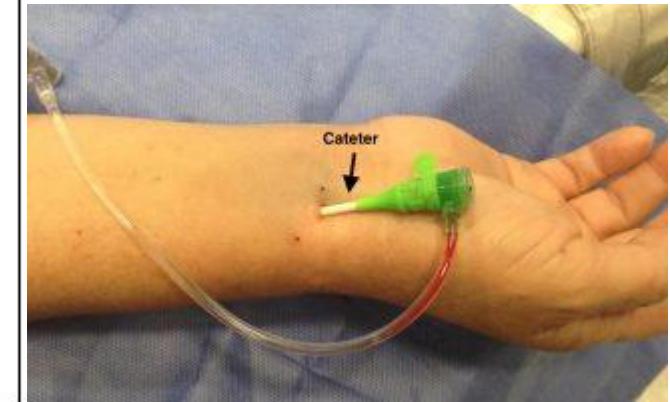
IgA proteases (mucosa S. resp):
N. gonorrh, *S. pneum*, *H. influen*

Fatores relacionados a adesão

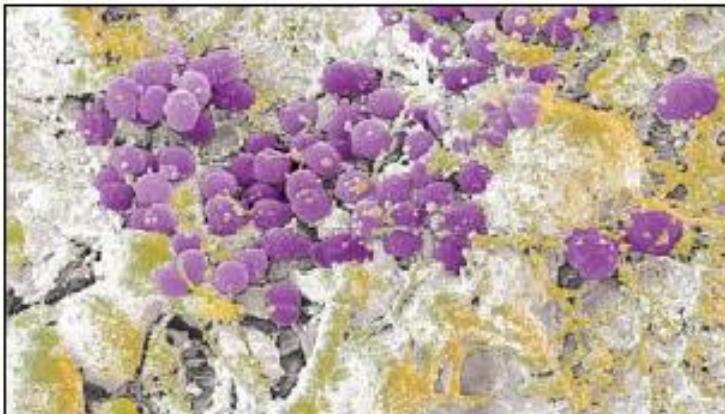


Biofilmes –

Comunidades estruturadas de células microbianas envolvidas por exopolissacarídeos e aderidas a superfícies



BiofilmeEPS: Subst.
Polimérica extracelular



Strep. Mutans>>>



Biofilme – placa dental



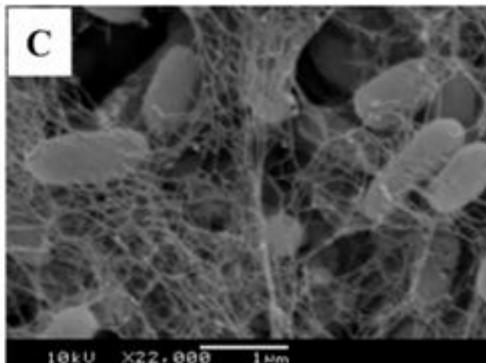
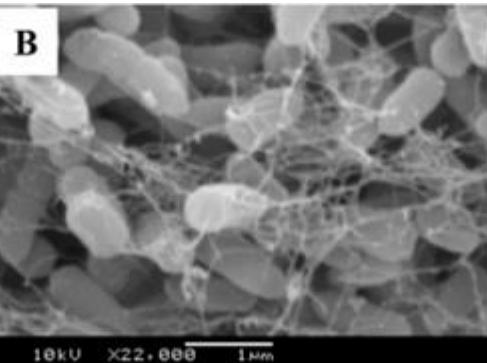
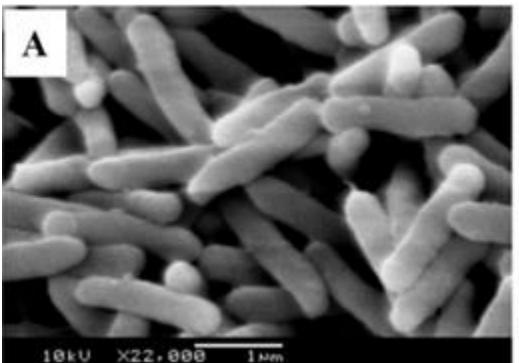
Subst. Formadas pelos biofilmes bacterianos:

Formação da matriz extracelular
glucano---coesão entre diferentes espécies de bactérias (*S. mutans*)

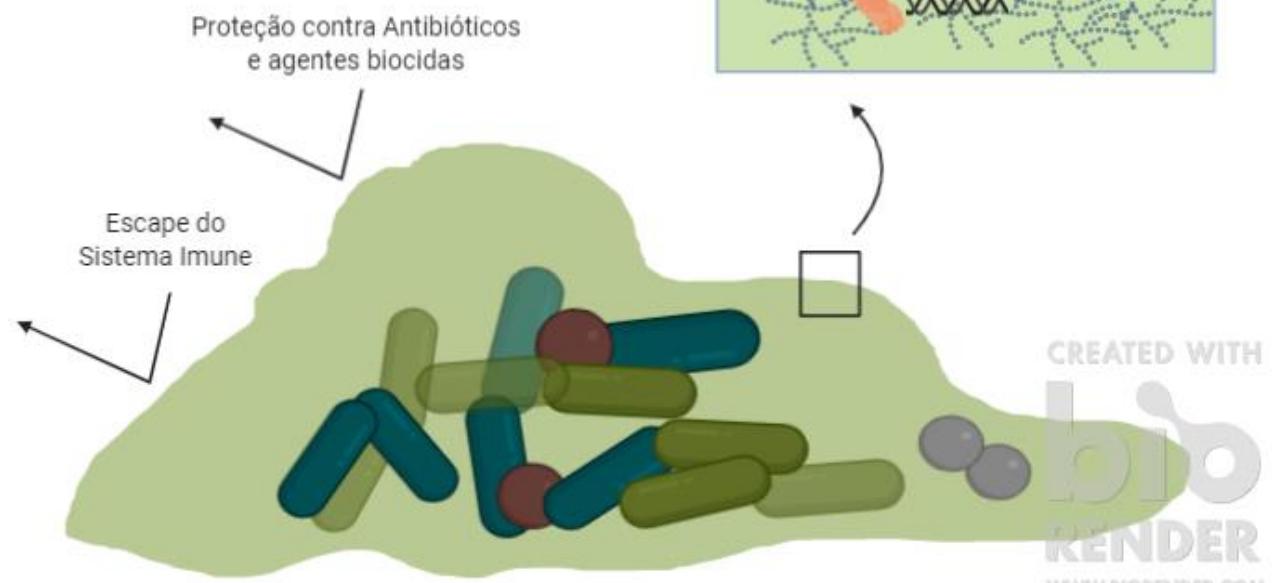
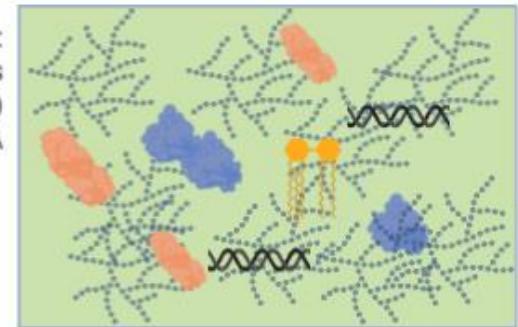
Vantagens do biofilme: nutrientes, proteção:
Sistema imunológico, antibioticoterapia, radiação,
entrada de protozoários, estabilidade
microambiente (água, acidez, oxigênio, etc)

Biofimes tem ciclo de vida: superpopulação- deslig.
Matriz >>> formação de biofilme em outro sítio

Formação de biofilmes após 3 períodos de incubação



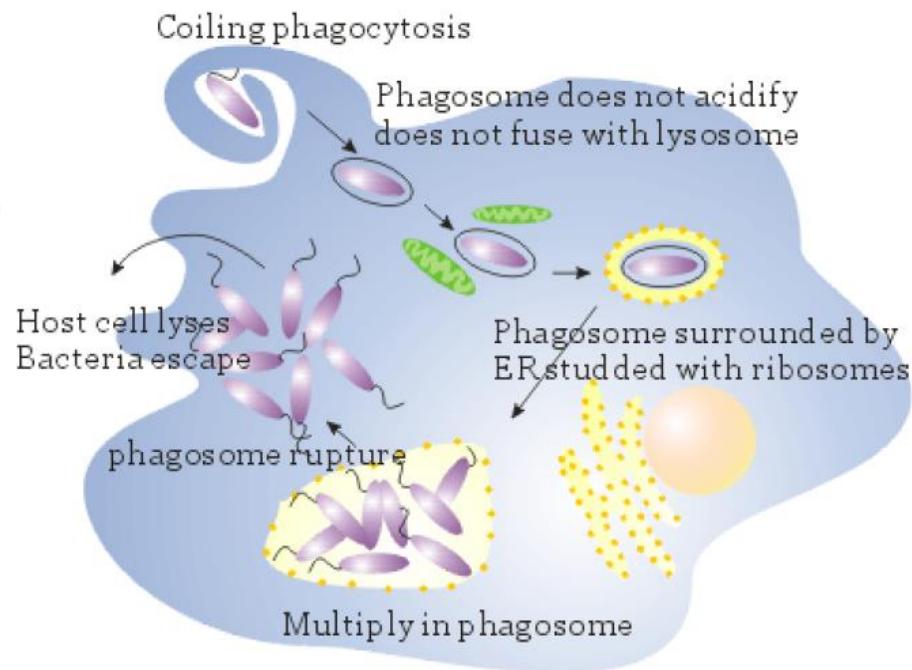
Biofilme matriz:
Microambiente composto de substâncias poliméricas extracelulares (EPS)
Presença de proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA

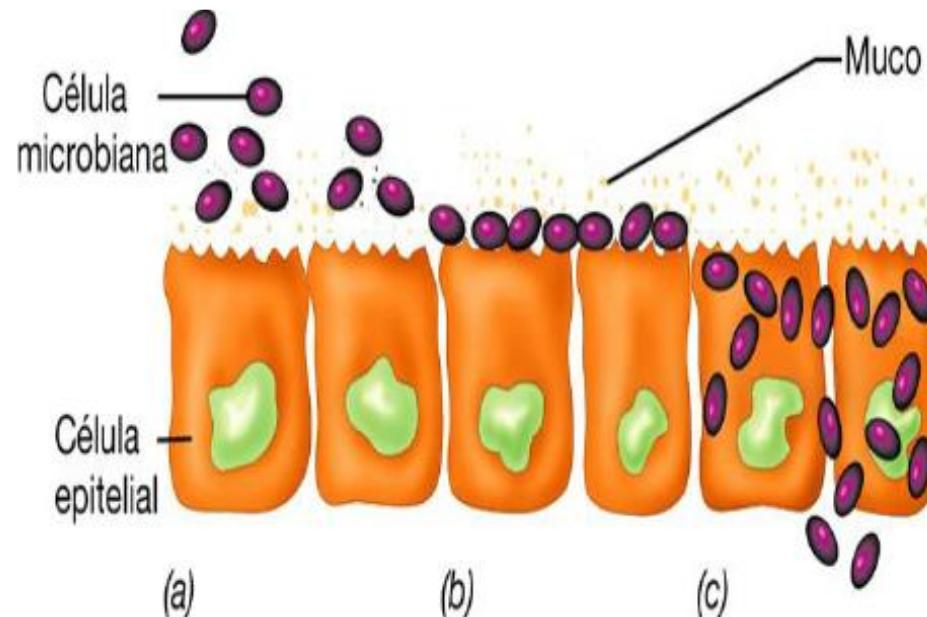


CREATED WITH
biorender.com
www.biorender.com

Escapando a Fagocitose

- ✓ Inibir recrutamento do fagócito e suas funções (cascata do complemento e opsoninas)
- ✓ Destrução microbiana de fagócitos (ex. Leucocidinas)
- ✓ Escapando a ingestão pelo fagócito (ex. Cápsula)
 - ✓ Algumas sobrevivem no interior do fagócito (impedem fusão e liberação dos conteúdos dos lisossomos)





Invasinas → Provocam alterações no citoesqueleto de células não-fagocíticas que emitem uma projeção da membrana plasmática semelhante a pseudópodos e fagocitando a bactéria

Microscopia Eletrônica de Varredura de cultura de células epiteliais formando “cestas” ao redor de *Salmonella*.



➤ Multiplicação nos Tecidos do Hospedeiro

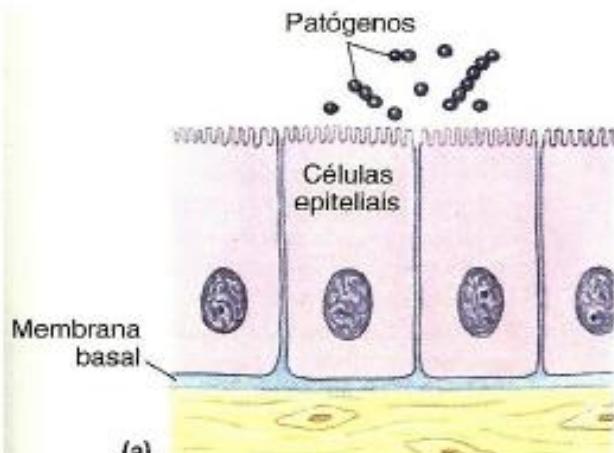
Normalmente a quantidade de células do agente que penetrou é pequena para produzir sintomas diretamente
(Período de Incubação)

Sobrevivência → Disponibilidade de **nutrientes** no tecido infectado do hospedeiro

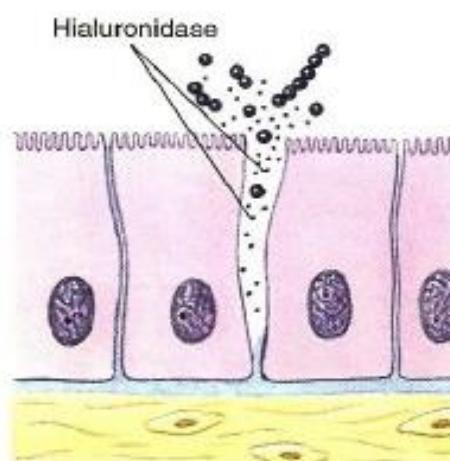
Produção e ação de **enzimas** produzidas pelas bactérias → liberar nutrientes

(Ex. Hialuronidases, DNAase, Estreptoquinase, Colagenases, Elastases, etc) **(=Fatores de Lesão)**

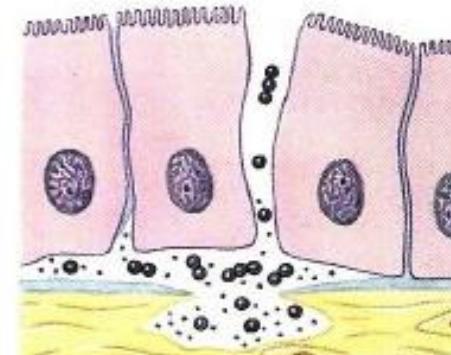
Fatores de Lesão



1. Patógenos invasivos alcançam a superfície epitelial



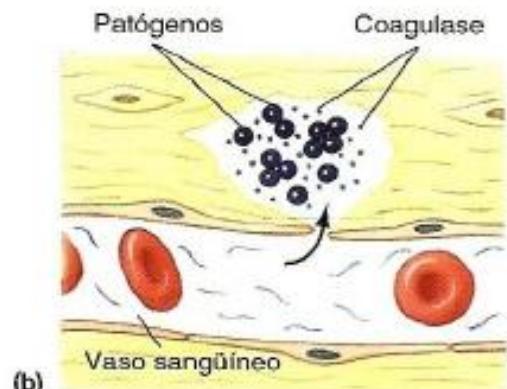
2. Patógenos produzem hialuronidase



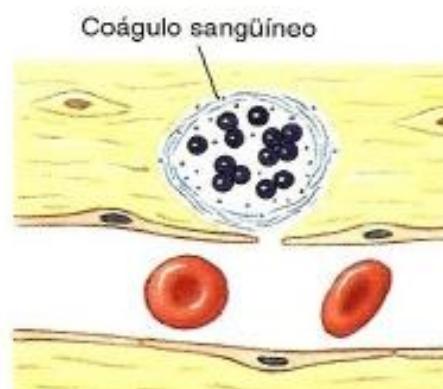
3. Patógenos invadem tecidos mais profundos

Coagulase
Fibrinogênio em fibrina
Estreptoquinase
Degrada fibrina

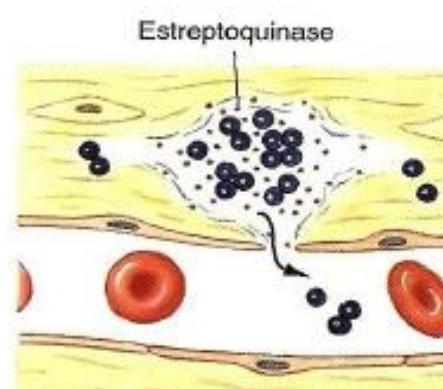
Estaficococos pneumococos



1. Patógenos produzem coagulase



2. Forma-se um coágulo sangüíneo ao redor dos patógenos



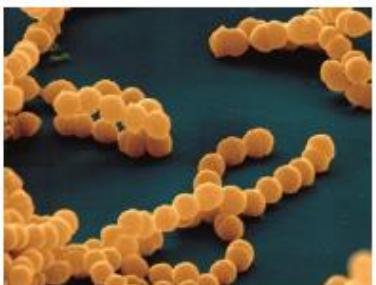
3. Patógenos produzem estreptoquinase, ocorrendo a dissolução do coágulo e liberando as bactérias



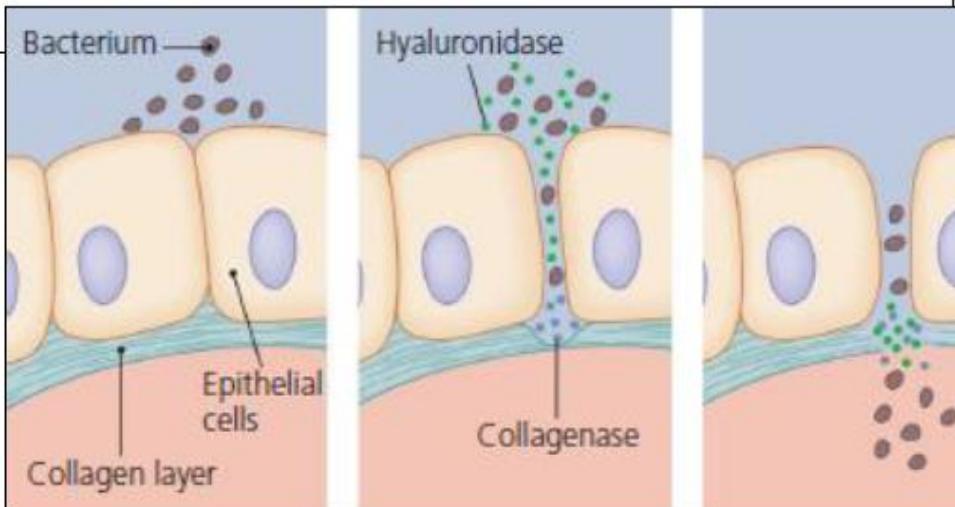
Ação coagulase
Abscesso *S. aureus*

Produção de enzimas

- **Colagenase** – hidrólise do colágeno que forma os tecidos conectivos de músculos e outros tecidos e órgãos. Células do hospedeiro tornam-se fracamente aderidas => disseminação da bactéria.



Streptococcus spp

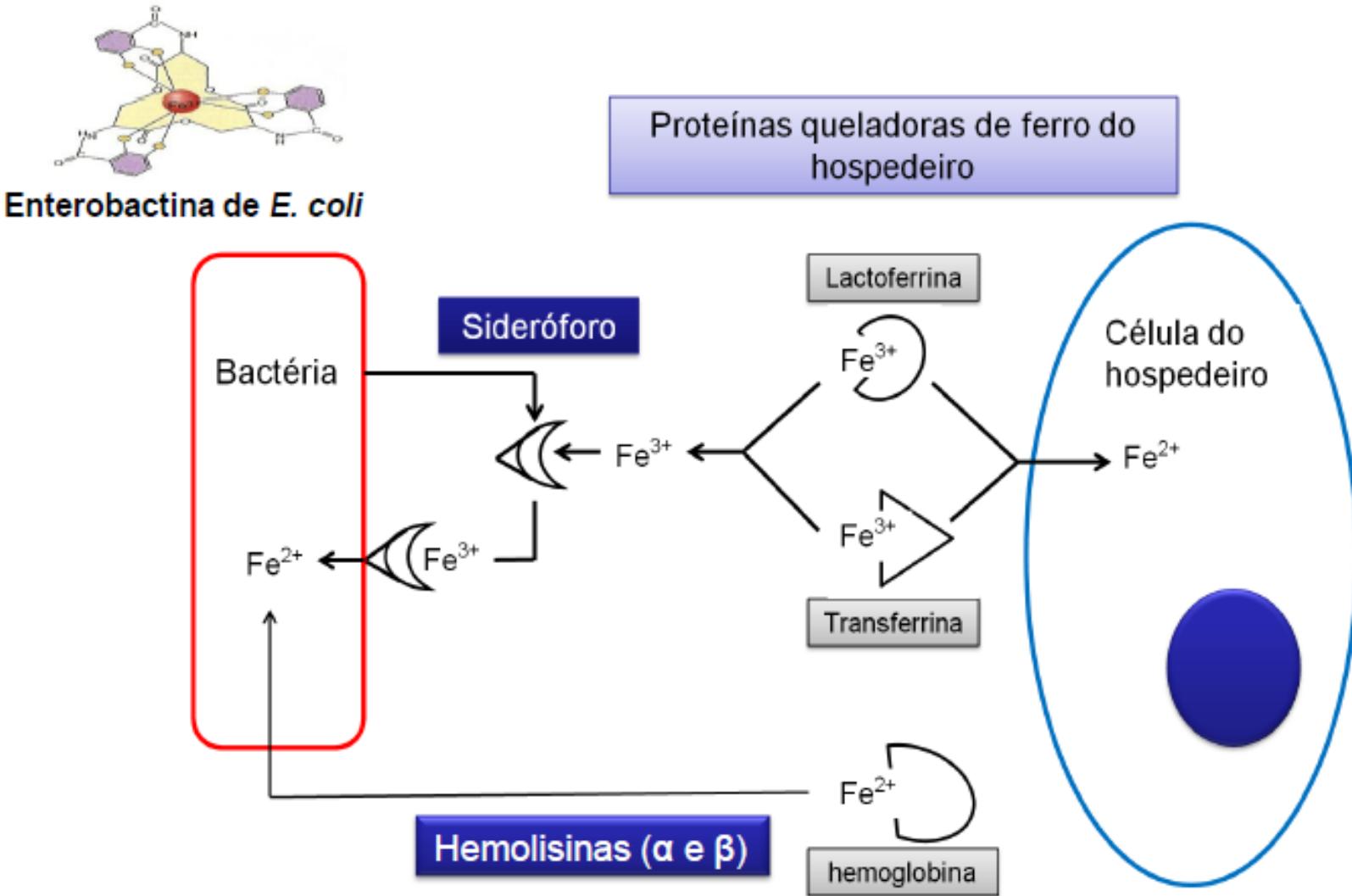


Clostridium perfringens



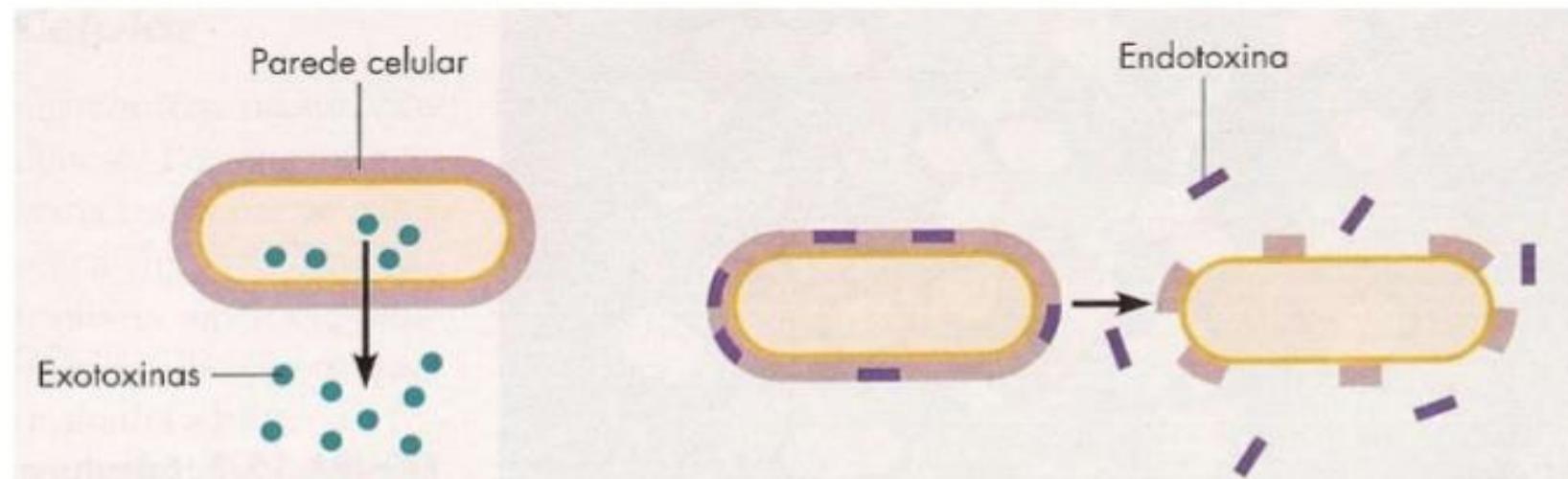
Fascite necrosante- Mionecrose

Sideróforos



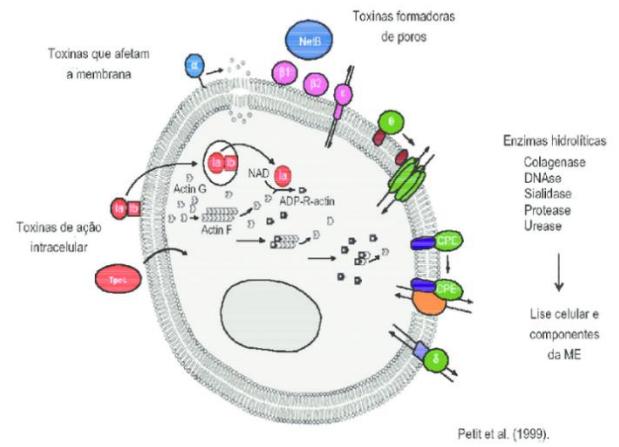
TOXINAS BACTERIANAS

EXOTOXINAS E ENDOTOXINAS



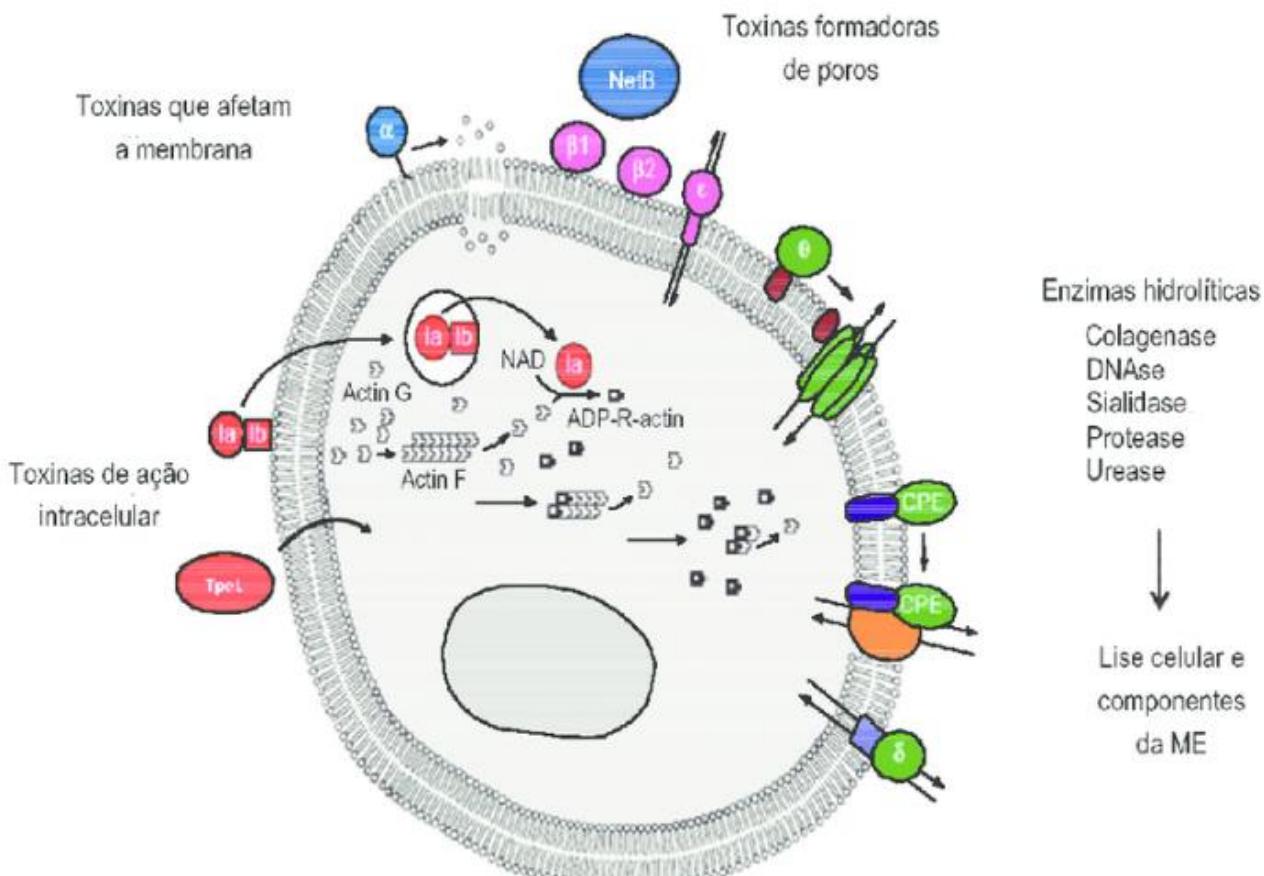
Exotoxinas

- ❖ **Citolíticas** – destroem a integridade da membrana citoplasmática, promovendo a lise celular.
- ❖ **AB** – subunidade B liga-se a um receptor superficial da célula hospedeira, promovendo a transferência da subunidade A através da membrana da célula-alvo, que promove danos à célula.
- ❖ **Superantígenos** – estimulam um grande número de células da resposta imune, resultando em intensas reações inflamatórias e danos teciduais.



Exotoxinas

- ❖ Citolíticas – destroem a integridade da membrana citoplasmática, promovendo a lise celular.
- ❖ AB – subunidade B liga-se a um receptor superficial da célula hospedeira, promovendo a transferência da subunidade A através da membrana da célula-alvo, que promove danos à célula.
- ❖ Superantígenos – estimulam um grande número de células da resposta imune, resultando em intensas reações inflamatórias e danos teciduais.

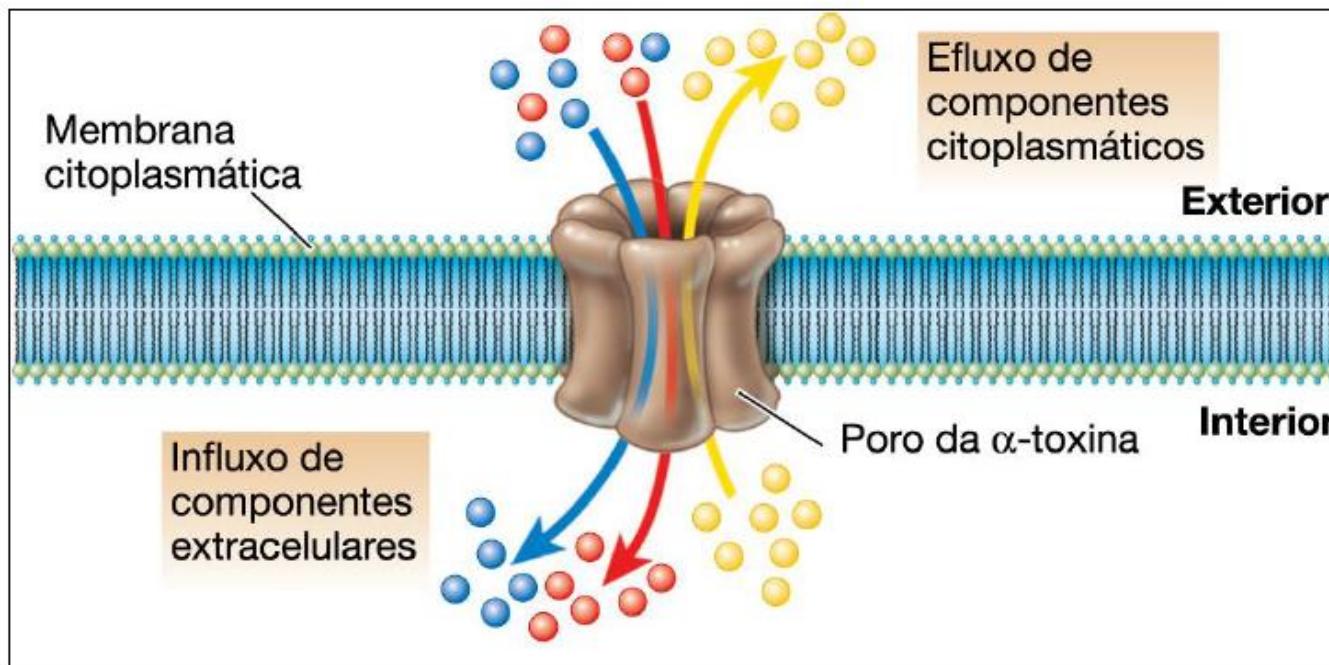


Petit et al. (1999).

Produção de toxinas - Citotoxinas

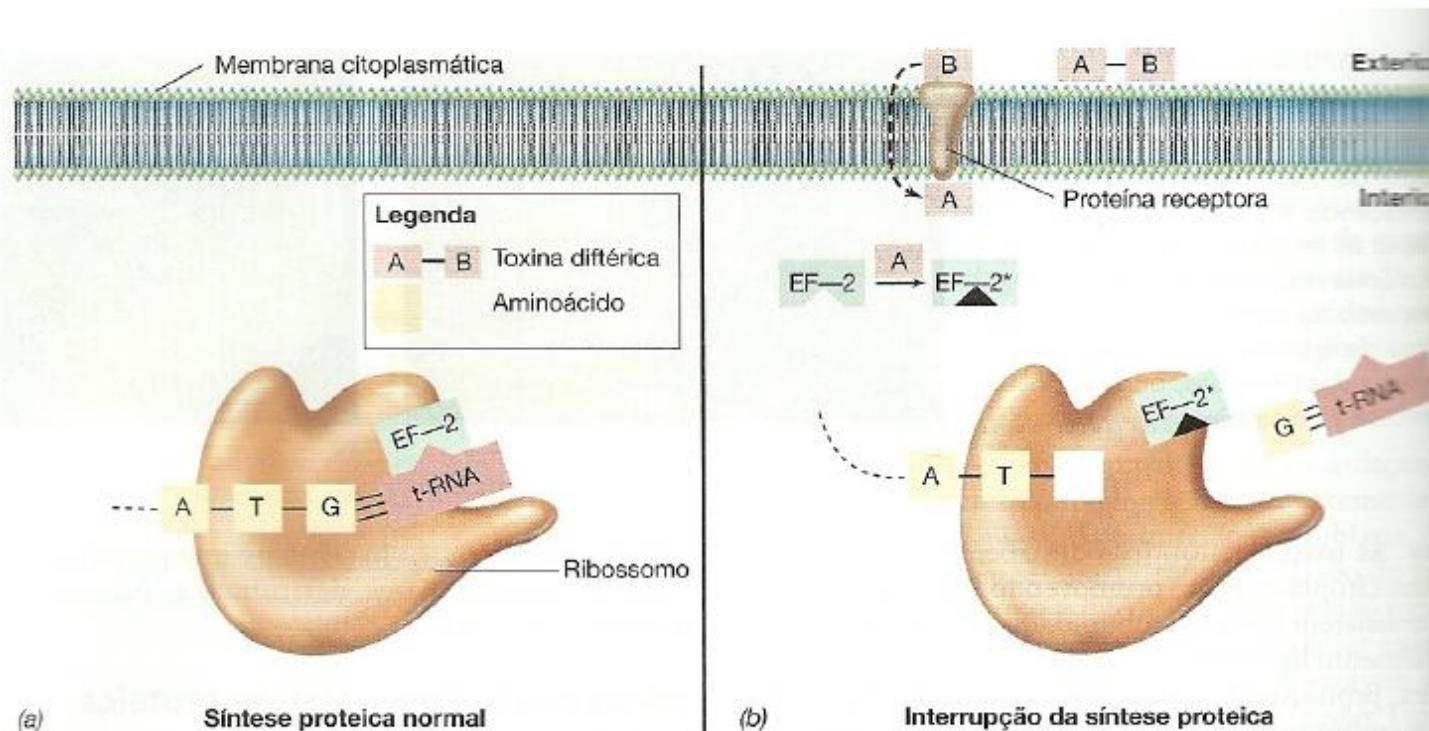
Toxina de *Staphylococcus aureus*: formam poros – liberação do conteúdo celular e influxo de compostos extracelulares – lise celular

Hemolisinas
Leucocidinas



Síndrome da pele escaldada
Destruição de desmossomos
(esfoliatina)

Toxina AB



A ação da toxina diftérica de *Corynebacterium diphtheriae*



Difteria- *Bordetella pertussis*
Lisogênica – Gene tox

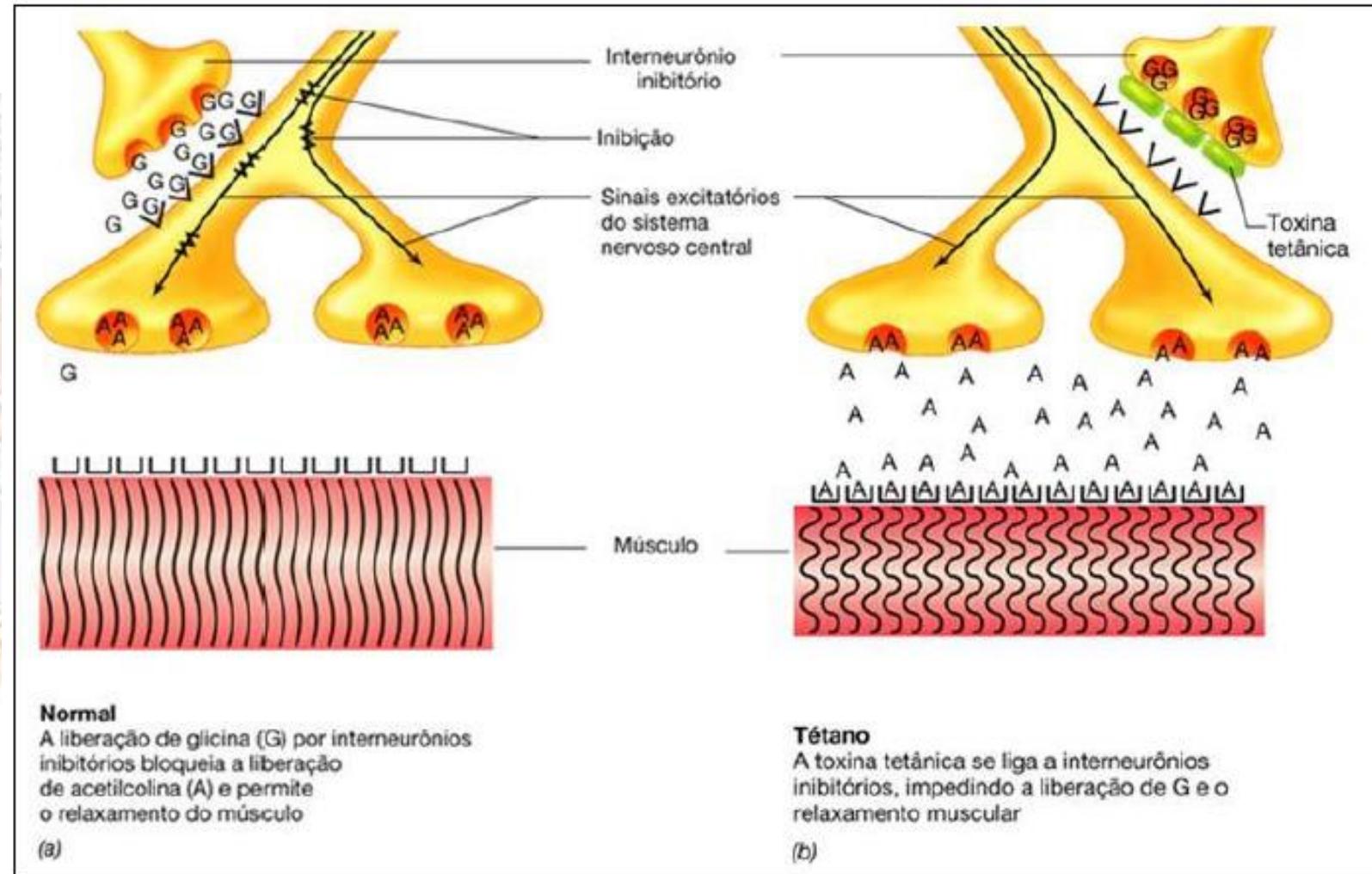


Escarlatina- *S. pyogenes*
Toxina eritrogênica

Neurotoxinas

Neurotoxina – *Clostridium tetani*

Toxina tetânica – liga-se às células nervosas – contração muscular incontrolável



Neurotoxinas

Botulismo alimentar- toxina pré formadas

Botulismo infeccioso – cortes (esporos)

Botulismo infantil – ingestão esporos (mel)

Manifestação neurológica e gastrointestinal

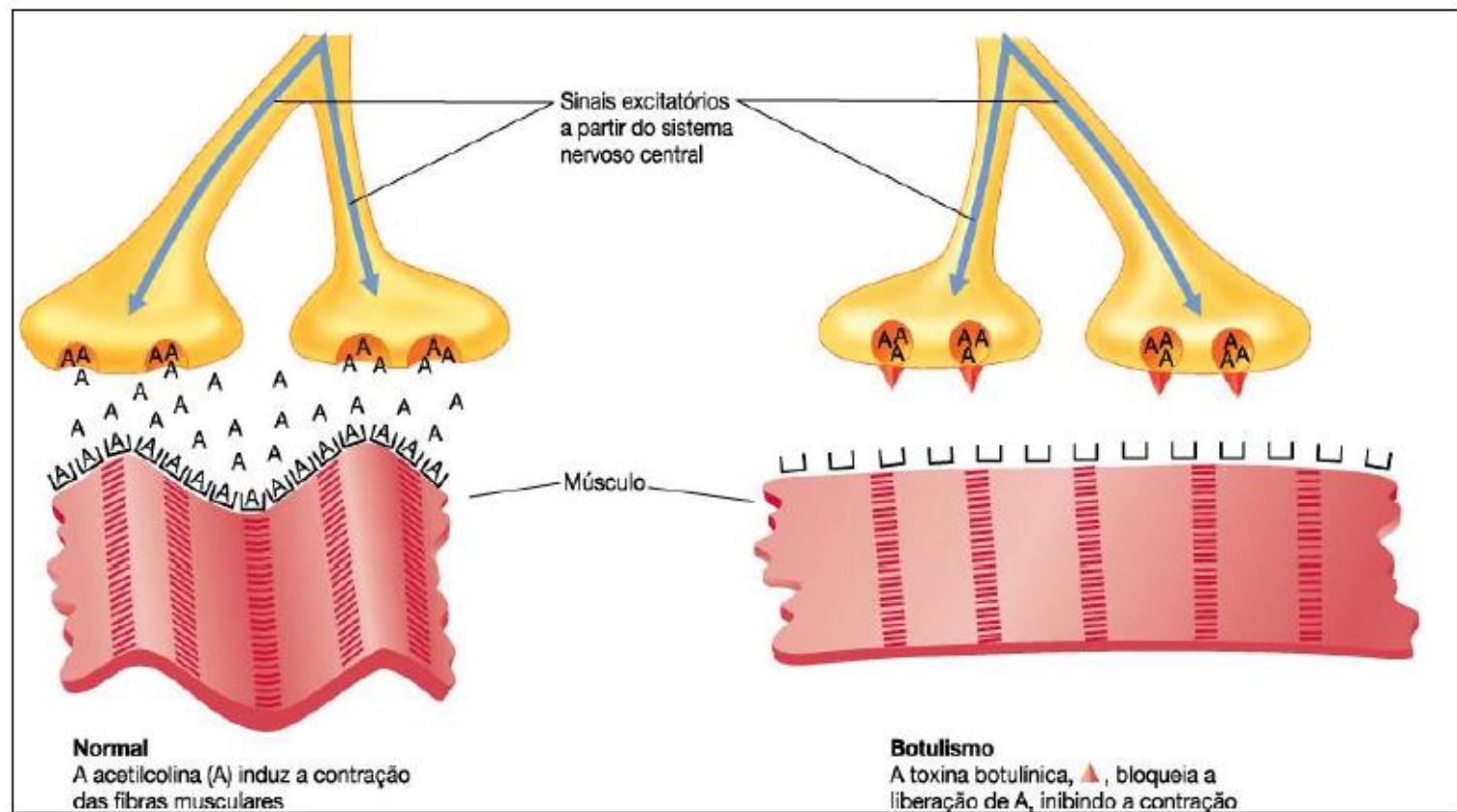
Muito letal pra crianças e imunodeprimidos

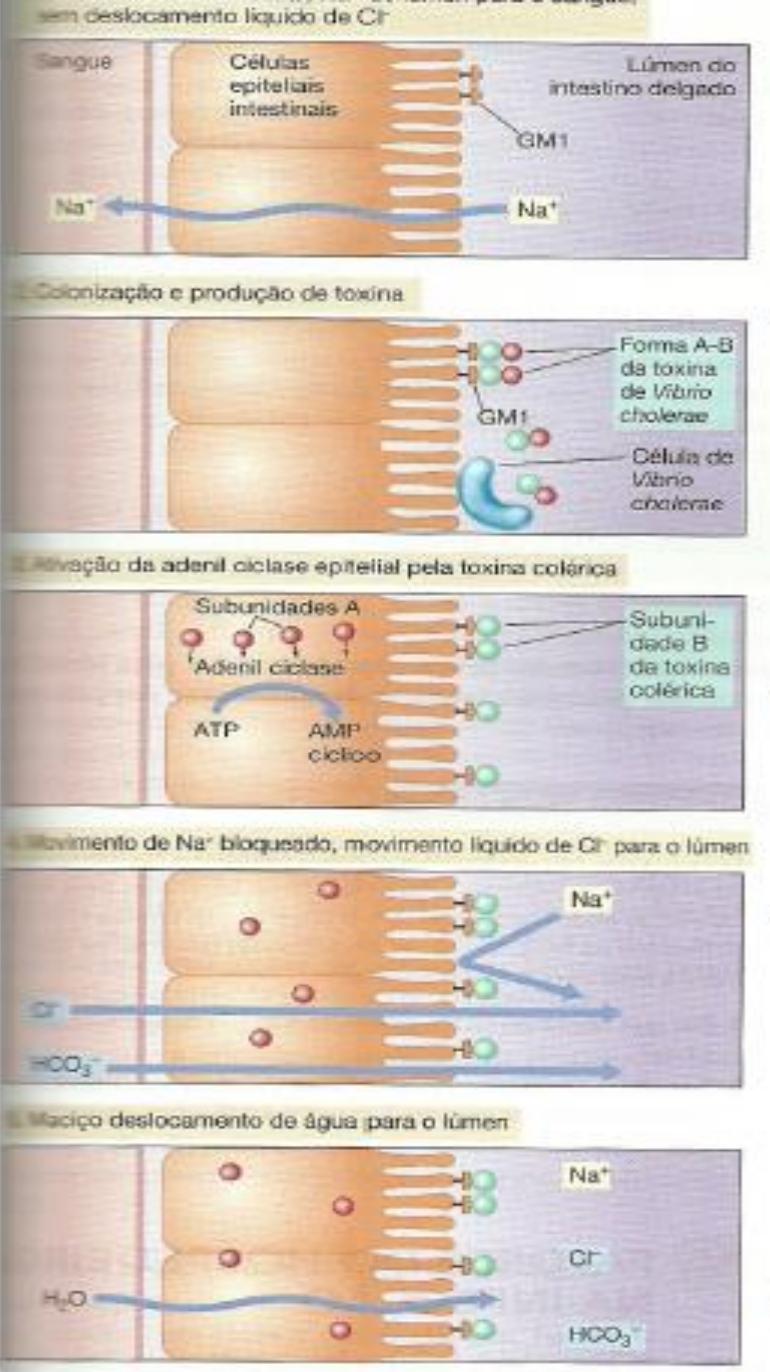
Paralisia e comprometimento respiratório



Neurotoxina – *Clostridium botulinum*

Toxina botulínica – age nas junções neuromusculares e impede a transmissão de impulsos para músculo (não se contrai)





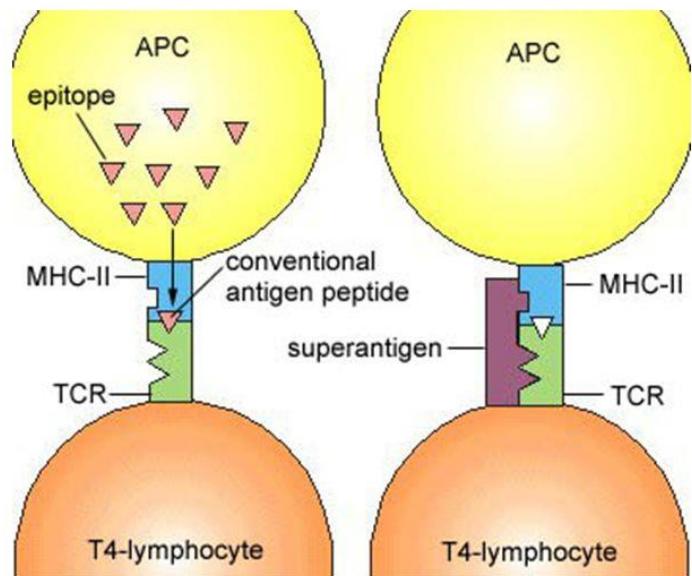
Enterotoxinas

- Exotoxinas cujas atividades afetam o intestino delgado, provocando secreção de fluidos para o lúmen intestinal, o que resulta em diarreia.
- Geralmente adquiridas pela ingestão de alimentos ou água contaminados.
- Produzidas por vários microrganismos: *S. aureus*, *C. perfringens*, *B. cereus*, *V. cholerae*, *E. coli* e *S. enteritidis*

Ação da toxina colérica

Superantígenos

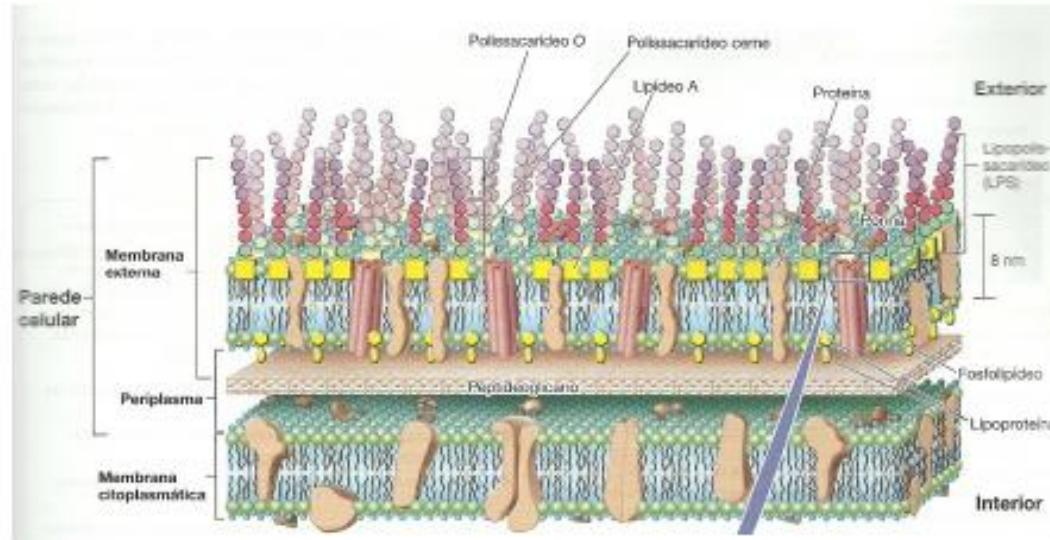
SUPER ANTÍGENOS



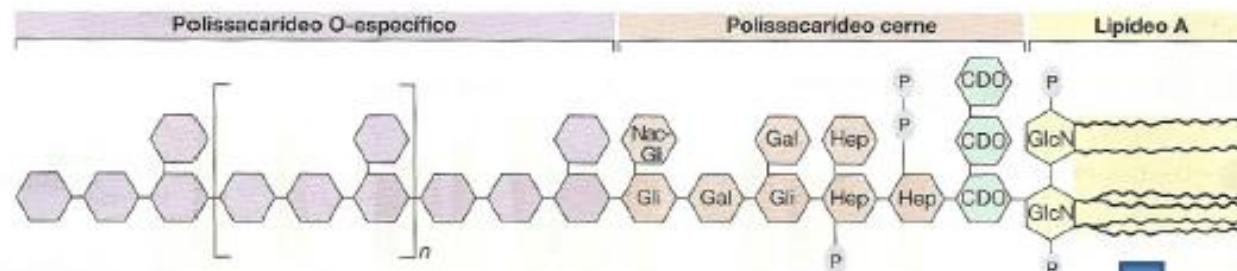
A síndrome do choque tóxico (toxic shock syndrome= TSS) é causada por exotoxinas estafilocócicas ou estreptocócicas

Os sintomas incluem febre alta, hipotensão, exantema eritematoso difuso e envolvimento de múltiplos órgãos, podendo progredir rapidamente para choque grave e intratável.

Endotoxinas



(LPS) da camada externa de Gram-negativas que estão ligadas à célula e liberadas em grandes quantidades quando as células sofrem lise.



Diarreia, vômitos, febre e choque
potencialmente fatal

ENDOTOXINA

Endotoxinas e a resposta pirogênica

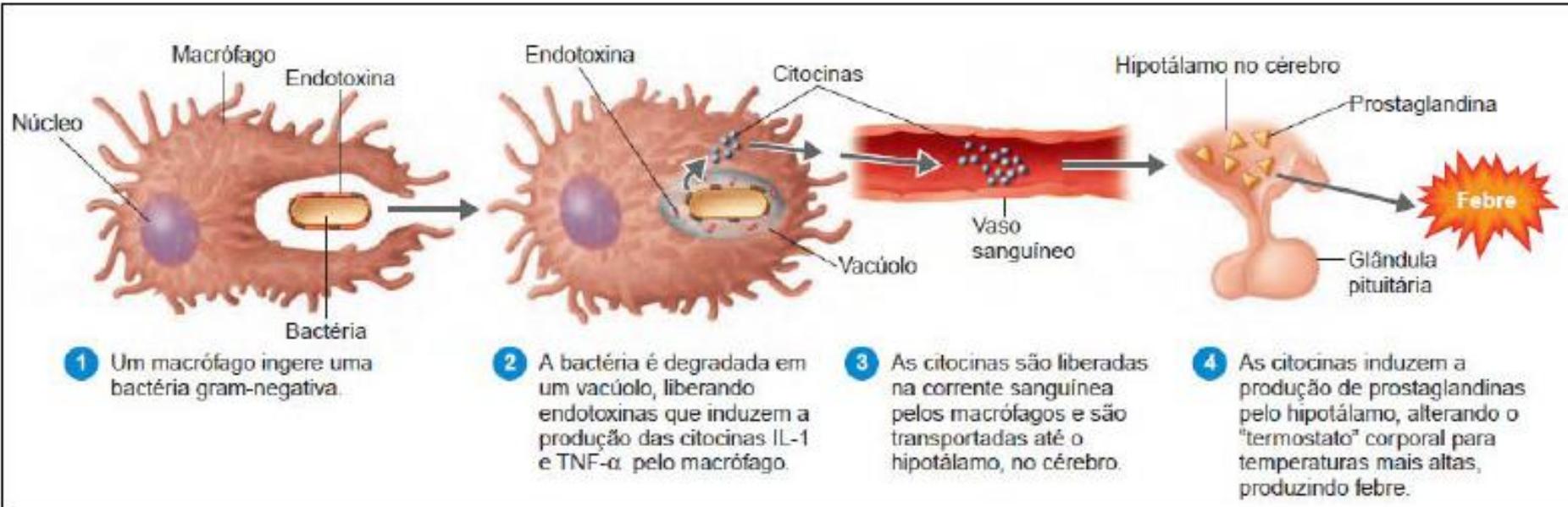
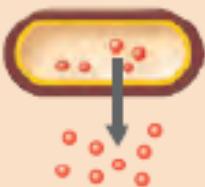
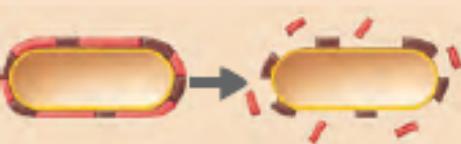
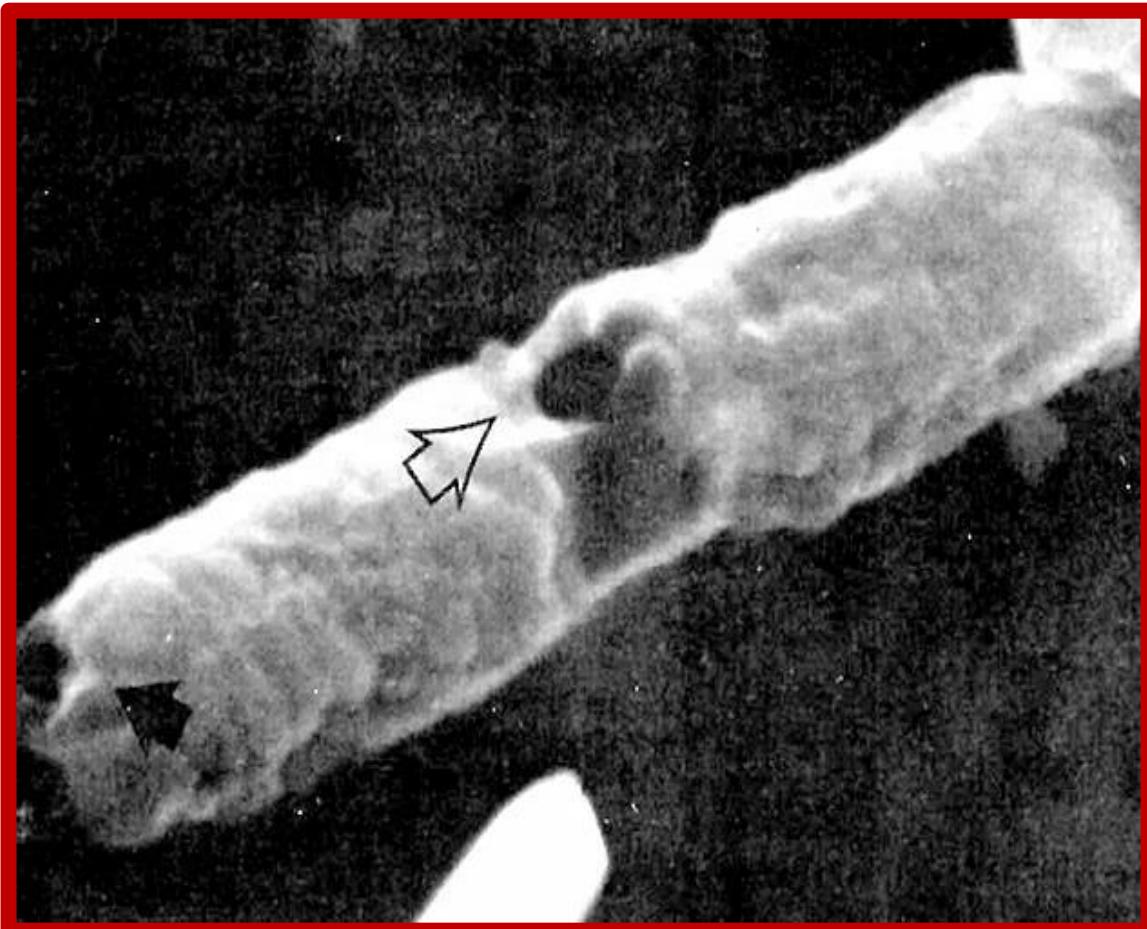


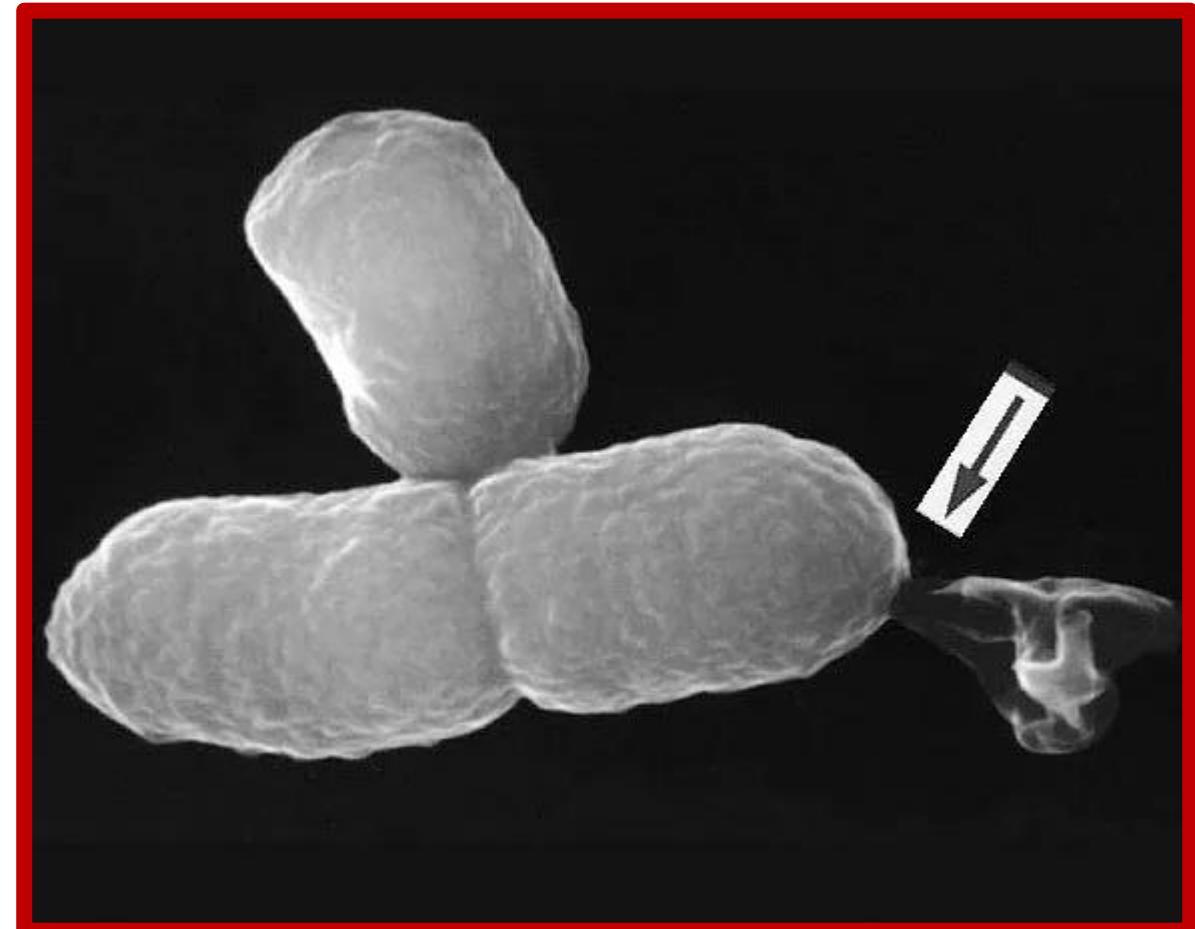
Tabela 15.3 Exotoxinas e endotoxinas

Propriedade	Exotoxinas	Endotoxinas
		
Fonte bacteriana	Principalmente bactérias gram-positivas	Bactérias gram-negativas
Relação com o micro-organismo	Produto metabólico de células em crescimento	Presentes em LPS da membrana externa da parede celular e liberadas com a destruição da célula ou durante a divisão celular
Propriedade química	Proteínas, normalmente compostas de duas partes (A-B)	Porção lipídica (lipídeo A) do LPS da membrana externa (lipopolissacárido)
Farmacologia (efeito no organismo)	Específica para uma estrutura ou função celular particular no hospedeiro (afeta principalmente funções celulares, neurônios e trato gastrintestinal)	Geral, causando febre, fraqueza, dores e choque; todas produzem os mesmos efeitos
Estabilidade ao calor	Instável; normalmente podem ser destruídas em 60 a 80°C (exceto a enterotoxina estafilocócica)	Estável; podem suportar autoclave (121°C por uma hora)
Toxicidade (habilidade de causar doença)	Alta	Baixa
Geração de febre	Não	Sim
Imunologia (em relação aos anticorpos)	Podem ser convertidas em toxoides para imunização contra a toxina; neutralizadas por antitoxinas	Não são facilmente neutralizadas por antitoxinas; toxoides não podem ser produzidos para imunizar contra as toxinas
Dose letal	Pequena	Consideravelmente maior
Doenças representativas	Gangrena gasosa, tétano, botulismo, difteria, febre escarlatina	Febre tifóide, infecções do trato urinário e meningite meningocócica

Antibióticos bacterianos



Fotomicrografia : E.coli



Prof. Dr. Ricardo Rocha

História da quimioterapia

- Cascas da Chinchona- Quinina – Desde 1630- Europeus – Malária
- Alívio da febre indígenas
- Mercúrio (Id. média)- Sífilis. Salivação (expelindo humores)
- **Toxicidade elevada** para tecidos e órgãos, paralisias, amolecimento e perda dos dentes



Início da quimioterapia moderna

Paul Ehrlich (~1900)- Bala mágica (busca da substância ideal). Corantes no tecido animal (princípio da ideia).

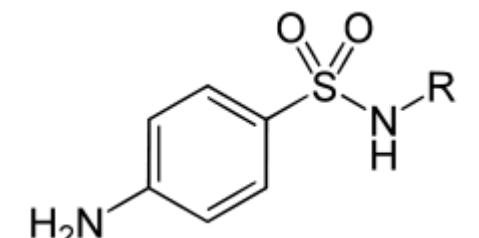
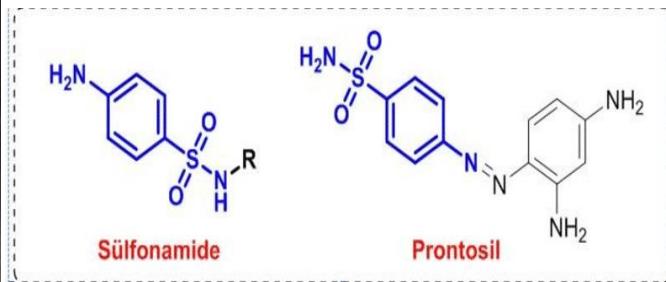
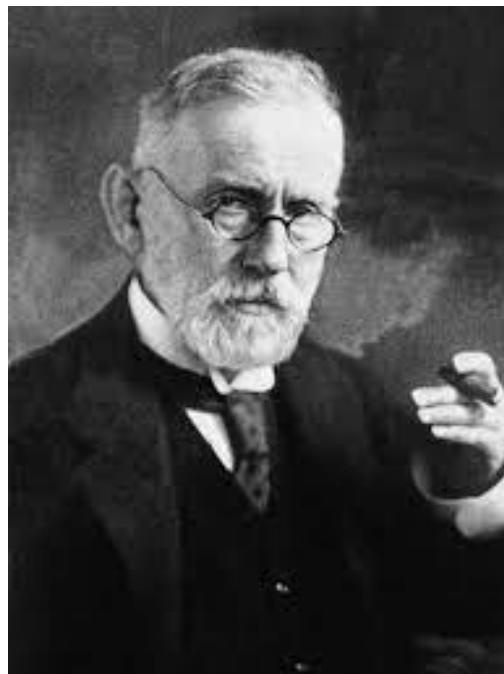
- Salvarsan contra sífilis (baixa toxicidade do arsênico).

Prêmio Nobel (1908).

- Dogmak (1939) – Corante Prontosil ativo contra estreptococos em camundongos, mas não em culturas

Jaques e Therese Tréfouel – Descoberta da transformação da do prontosil em sulfanilamida (mening, pneum, gono!)

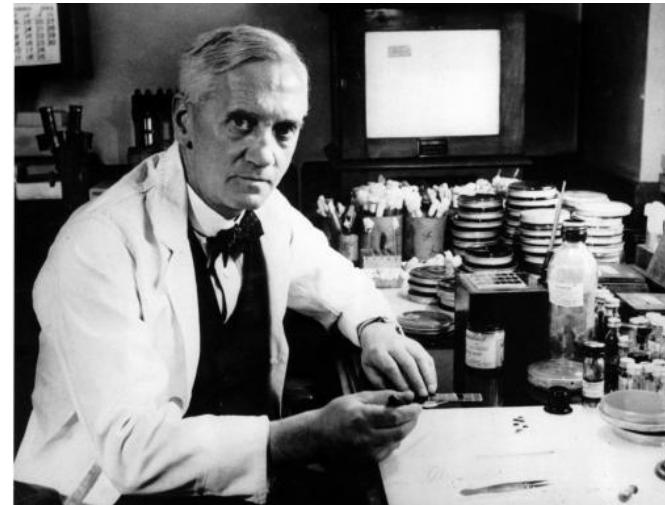
- Eficaz contra bactérias no tecido e em culturas (drogas de sulfa ou sulfonamidas)



Molécula de Sufonamida
(sintético)

Alexander Fleming

- Descobridor do antibiótico **penicilina** obtido a partir do fungo ***Penicillium notatum*, 1928**
- Primeiro antibiótico natural
- Industrialização das penicilinas (1944)
- Ferimentos de soldados 2 guerra
- **Chain e Florey- Prêmio Nobel (isolou a penicilina)- P. chrysogenum- melhor produtor de penicilina**
- Descoberta de outros antibióticos até década de 50/60. Resistência detectada em vários .



Penicillium chrysogenum* inhibindo crescimento de *S. aureus

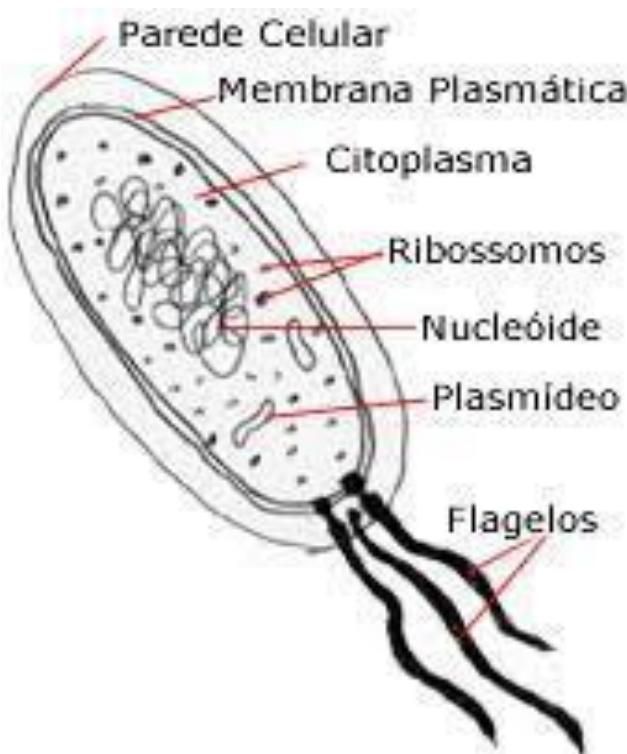


Uso de ATB
Doenças infecciosas,
gripes, tratamento
cancer cancer,
transplantes and
cirurgias de coração

Toxicidade seletiva antibióticos

- Principal fundamento da terapia antimicrobiana
- Estrutura, metabolismo dos microorganismos
- Dificuldade de produzir antivirais

Quais são os alvos ? Porquê?



Espectro de atividade de antibioticos

- Reduzido: Atuam sobre um pequeno número de espécies bacterianas (Ex. gram-positivas)
- Intermediário: Atuam sobre um número limitado de bactérias (gram-positivas e algumas gram-negativas)
- Amplo: Atuam sobre um grande número de espécies bacterianas (muitas gram-positivas e negativas, anaeróbicas, etc).
- Flora bacteriana

Atividade dos antibioticos

Bactericida - mata a bactéria

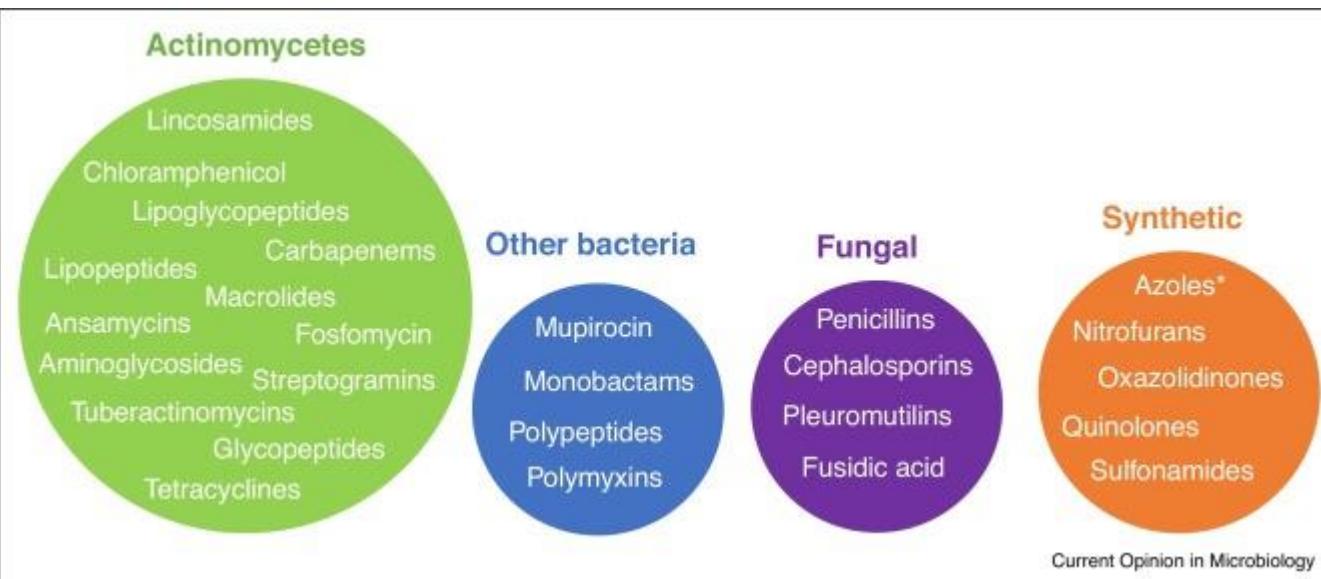
- Úteis em pacientes imunossuprimidos
- Indicado em contagem baixa de leucócitos polimorf.

Bacteriostática – inibe o crescimento

- Retirada do fármaco volta a crescer
- Fagócitos são necessários pra matar a bactéria

Origem dos antibióticos:

- Naturais (Antibióticos): São obtidos a partir de microrganismos (fungos e bactérias): Bacillus, actinomicetos, penicillium, streptomices, cephalosporum
- Maioria descoberto do solo
- Sintéticos (Quimioterápicos): São obtidos totalmente por síntese química (em laboratório, indústria)
- Semi-sintéticos: São obtidos por modificações químicas de antimicrobianos naturais, com a finalidade de melhorá-los



**Quais os mecanismos
de ação dos
antibióticos contra as
bactérias?**

Principais mecanismos de ação dos antibióticos

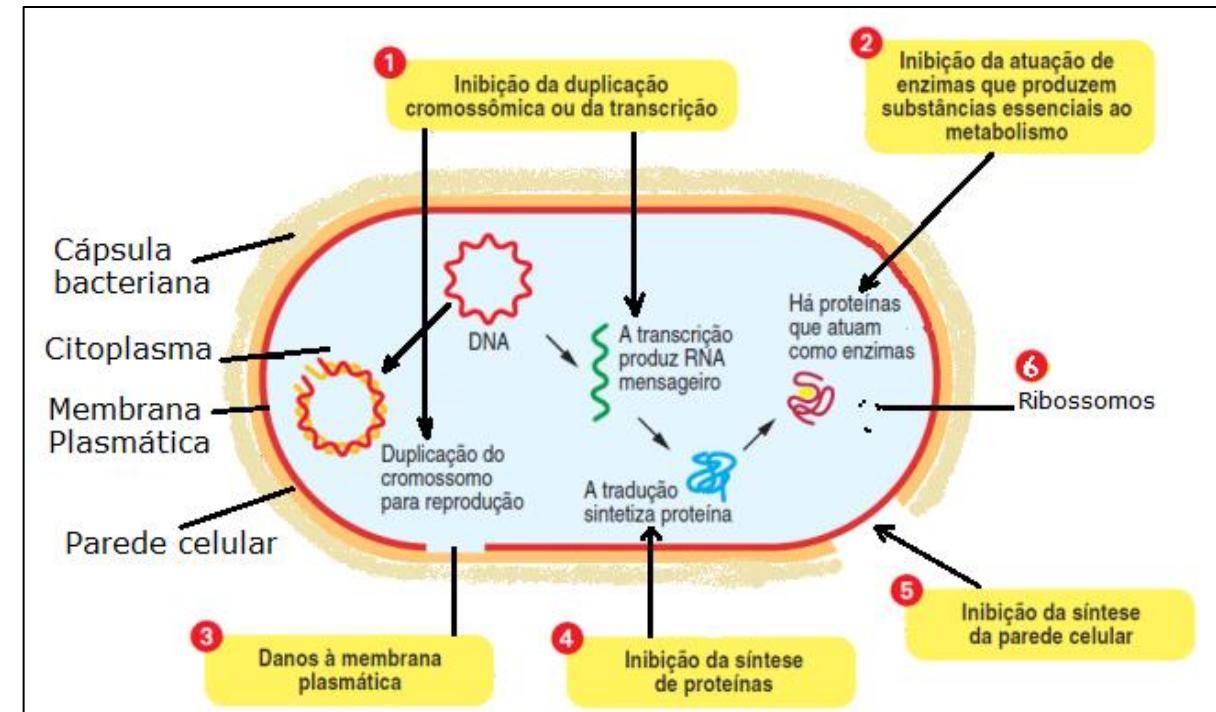
Inibição da síntese de parede celular

Inibição da síntese de proteínas

Inibição da síntese de ácidos nucleicos

- DNA
- RNA
- nucleotídeos

Danos à membrana plasmática



Grupos de antibióticos utilizados na terapia antibacteriana

Inibem a síntese da parede celular

(Bactericidas)

B- lactâmicos

- Penicilinas (naturais, semi-sintéticas)
- Cefalosporinas
- Monobactâmicos
- Carbopenêmicos

Não B-lactâmicos

- Vancomicina (glicopeptídeo)
- Bacitracina (polipeptídeo)
- Antimicobacterianos (Isoniazida, etambutol, pirazinamida)

Inibem síntese de proteínas

(Bacteriostáticos)

Aminoglicosídeos

- Estreptomicina, gentamicina, neomicina

Macrolídeos

- Eritromicina, claritromicina, azitromicina

Tetraciclinas, Croranfenicol, Clindamicina

Estreptograminas

Inibem a síntese de ácido nucleico

(bactericidas e bacteriostáticos)

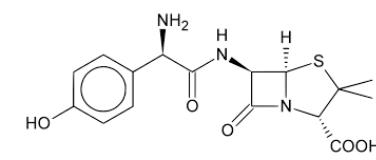
Sulfonamidas

Trimetoprim

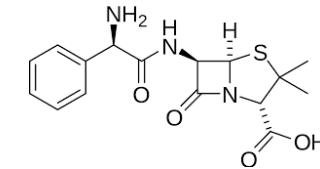
Quinolonas e fluorquinolonas

Metronidazol

Rifamicinas

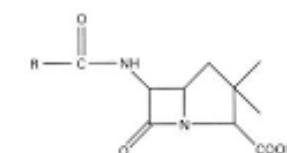


Amoxicilina

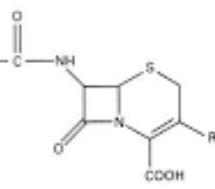


Ampicilina

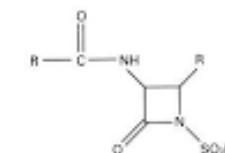
Penicilinas



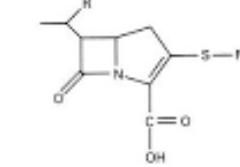
Cefalosporinas



Monobactams



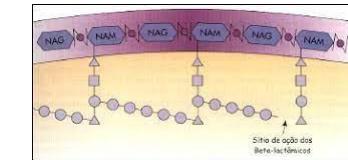
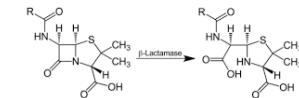
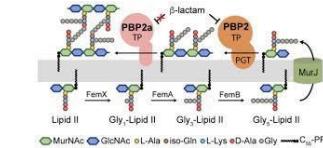
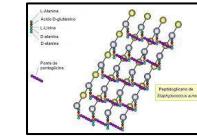
Carbapenems



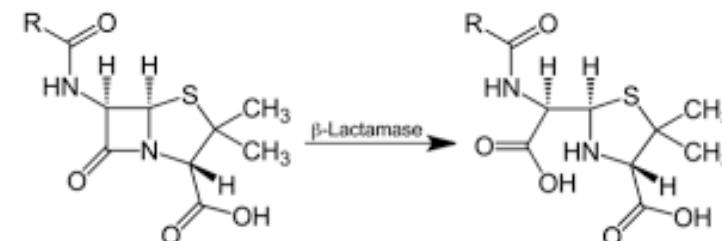
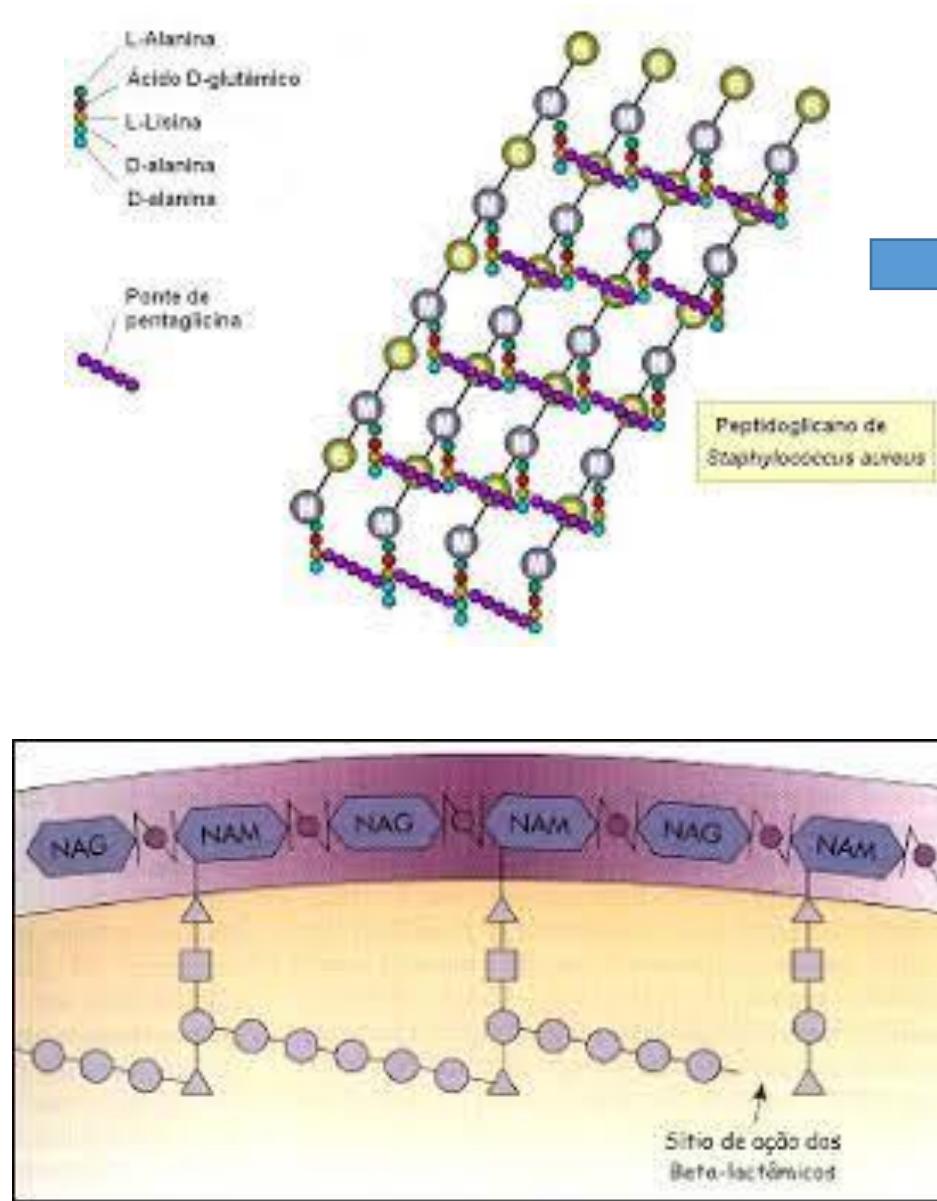
R = cadeia lateral

Inibição da síntese de parede celular Bactericidas

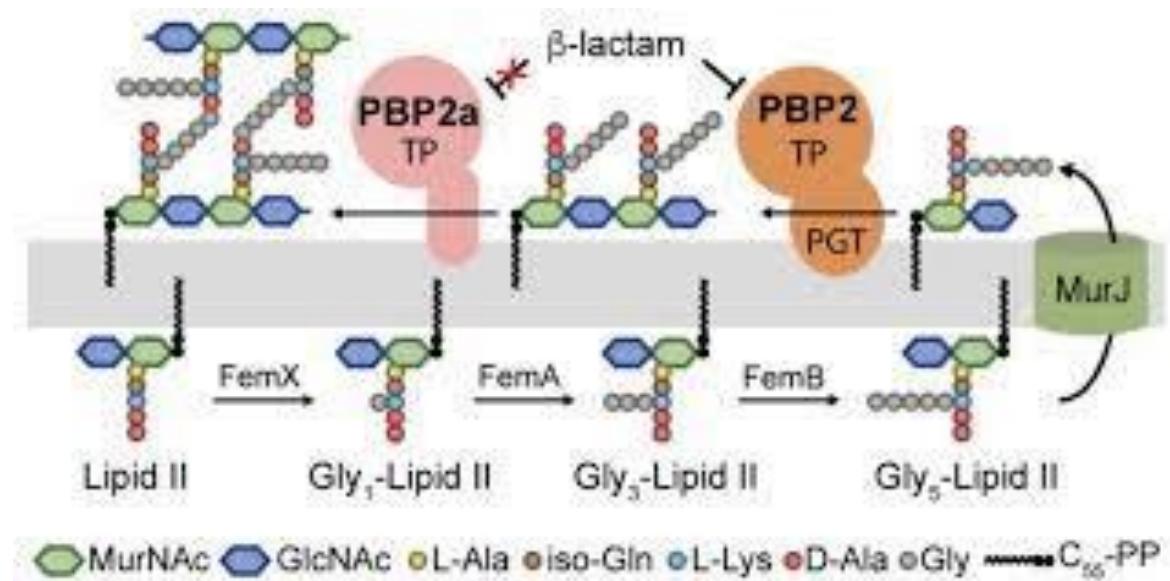
- Penicilinas (*Penicillium notatum*)
- *Penicillium notatum* (P. naturais) – Anel B-lactâmico. Pressão osmótica, Autolisinas. Protoblastos
- Penicilinas- Penicilina G, Penicilina V (*Staphylococcus.*, *Neisserias*, *Treponemas*)
- Efeito adverso. Hipersensibilidade (rara 1 a 10%)
- **Penicilinas de espectro extendido-** Aumento de espectro para vários gram negativas
- Amoxicilina, ampicilina (*hemophilus*, *Salmonella*, etc)
- **Cefalosporinas (*Cephalosporium acremonium*)** – aumento nas gerações do espect. G-
- 4 gerações de cefalosporinas-
- Ex. Cefalotina (1 G- + Pos)-Cefexima (2 e 3G- + Neg), 4G- anaeróbios.
- Mais resistentes à inativação enzimática - 3 geração
- Menos reação de hipersensibilidade
- **Beta- lactamases**
- Elevada resistência - Beta lactamases (penicilinases), PBP's alteradas (transpeptidases)
- Penicilinas resistentes à b-lactamases- Ác. Clavulânico, sulbactam
- Meticilina- mudança estrutural pra impedir ação das B-lactamases
- Estafilococos resistentes à penicilina- MRSA
- **Vancomicina (*Streptomyces*)**- atua contra MRSA- outra via de inibição
- Enterococos hospitalares e *S. epidermidis*.
- Penicilinas não atuam contra *K. pneum.* *Pseud. Aeruginosa*
- **Bacitracina (*Bacillus*)**– atua nas etapas iniciais da form. PC- muito tóx.



Inibição da síntese de parede celular Bactericidas



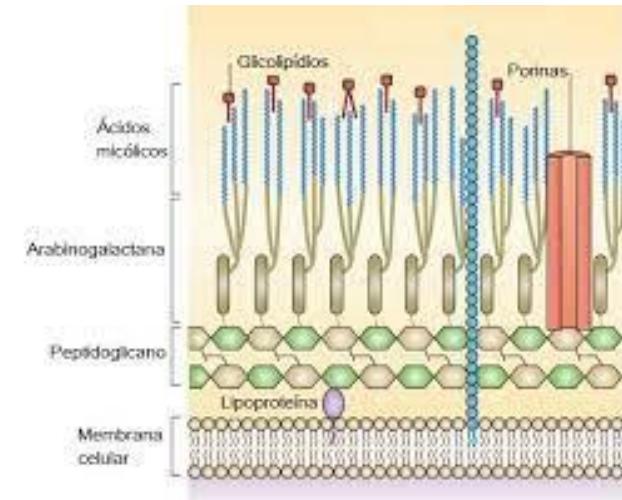
Resistência (mod. PBP para PBP2)



Inibição da síntese de parede celular (Bactericidas)

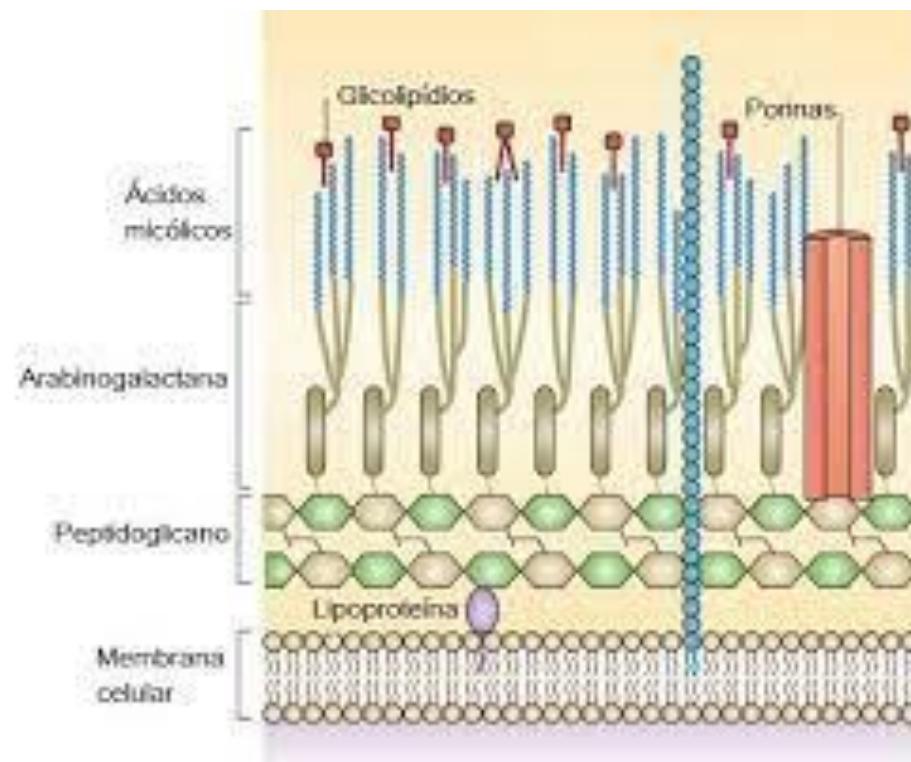
- **Monobactâmicos (*chromobacterium violacium* – bacilo gram negativo)**
- Fármaco b-lactâmico monocíclico sintético
- Estruturalmente diferentes das penicilinas e cefalosporinas
- Aztreonam- Espectro bastante extendido para vários G-. Enterobactérias e Pseudomonas
- Resistente à maioria das b-lactamases
- **Solução para pacientes sensíveis à penicilina (hipersensibilidade).**

- **Carbapenêmicos (*Streptomyces cattleya*)**
- Fármaco b-lactâmico semi-sintético
- Estruturalmente diferentes das penicilinas e cefalosporinas
- **Maior espectro de ação dentre os fármacos b-lactâmicos**
- Excelente atividade contra bactérias G+ /G- e anaeróbias
- Stafilos, Streptos, Maioria dos cocos G- (neisserias), bacilos G- (pseudomonas, haemophilus), enterobactérias (E. coli)
- **Anaeróbias (Bacteróides e Clostrídium)**
- Não é desativado pela maioria das B-lactamases
- Meropenem, ertapenem , **Imipenem** - utilizado com cistatina para evitar metabolismo nos rins (enzima desidropeptidase)
- **KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase)**



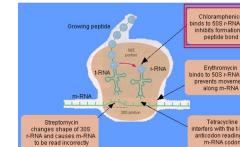
Inibição da síntese de parede celular (Bactericidas)

- Antimicobacterianos (Bacilos BAAR) – Boa penetração em macrófagos
- Isioniazida- inibe a redutase para síntese de ácido micólico (ácido graxo de cadeia longa) da parede celular (bactericida)
- Etambutol- inibe a síntese de arabinogalactano (promove ligação entre ác. micólico e parede celular (bacteriostático)
- Pirazinamida- inibe a síntese de ác. graxo sintease (síntese de ác. micólico)

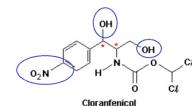


Inibição da síntese de proteínas

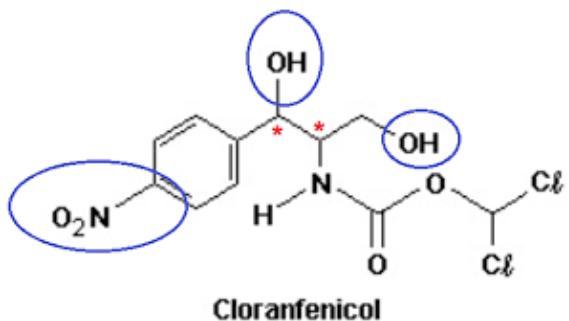
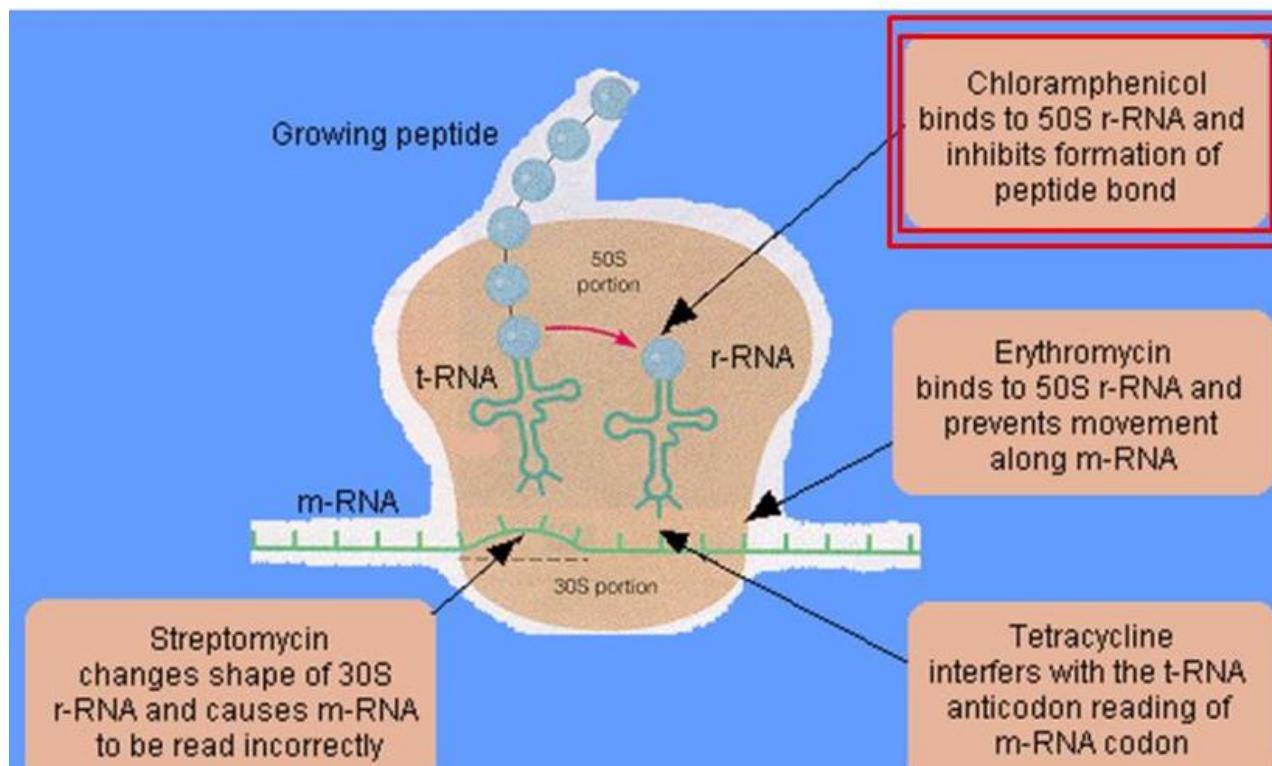
- **Tetraciclinas (diversos *Streptomyces*)**- Bacteriostática
- Atua na sub **30S** bloqueando a entrada do tRNA no sítio acceptor.
- Clortetraciclina, tetraciclina, oxitetraciclina, doxiciclina, minociclina
- Amplo espectro . Bacilos e cocos G+ e G-. Micoplasmas, riquétsias e clamídeas.
- Baixa seletividade . In vitro tetraciclinas inibem igualmente a síntese prot. em procarióticos e eucarióticos
- Afeta mais células bacterianas que humanas (baixa toxicidade).
- **Efeitos colaterais:** supressão da microbiota (diarreias).
- **Quelantes de cálcio:** Deposição em ossos e dentes em formação.
- **Contraindicada** crianças abaixo de 8 anos e grávidas.



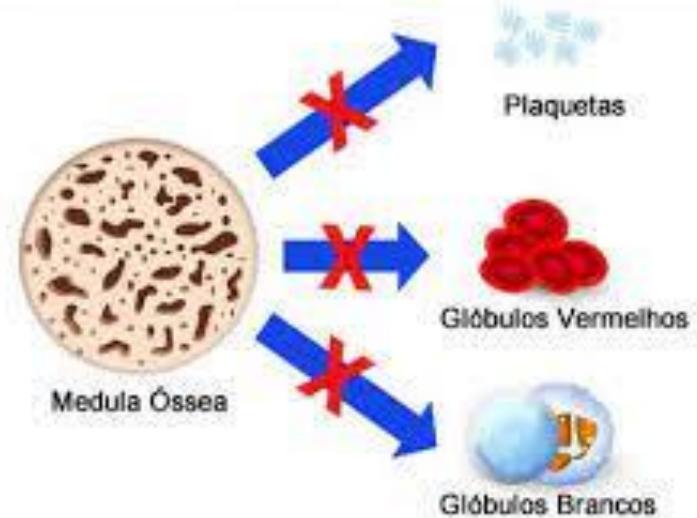
- **Cloranfenicol (*Streptomyces venezuelae*)**- bacteriostático
- Sintético - custos mais baixos e produção em larga escala
- Atua na sub. **50 S** impedindo a ligação de aminoácidos (formação de polipeptídeos) inibindo a síntese protéica
- Bactericida contra organismos **capsulados** (*H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*)
- Amplo espectro (bactérias G+ e G-)
- Baixa toxicidade seletiva (inibe síntese proteica nas mitocôndrias – sub. ribossômica 50S)
- **Nitrobenzeno** – Depressor de medula óssea (baixa produção de células do sangue)
- Interrupção da administração interrompe efeitos colaterais (dose dependente)
- **Anemia aplásica** (não é dose dependente), síndrome do bebê cinza (conc. tóxica de cloranfenicol)



Inibição da síntese de proteínas



Anemia Aplástica

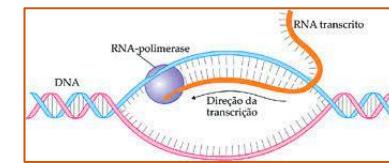
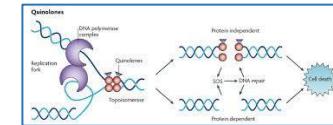
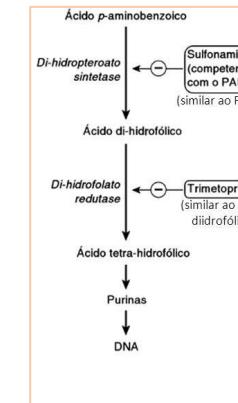


Inibição da síntese de proteínas

- **Aminoglicosídeos (*Streptomyces griseus*)**- Bactericida/Bacteriostático (dose/inócuo/tipo de bactéria)
- Atua na subunidade 30S. Altera leitura do códon. Etapa inicial tradução (proteínas de transporte defeituosas de membrana. morte).
- Estreptomicina, Gentamicina, Neomicina (muito tox. Indicado Controle da flora antes de cirurgia gastrica)
- Amplo espectro incluindo Micobactérias (tuberculose), Pseudomonas, Yersinia pestis, etc.
- **Eficaz contra organismos resistentes à penicilina e sulfas**
- **Ineficazes contra anaeróbicos (seu transporte pra dentro da bactéria requer oxig.)**
- Administração parenteral (pouca absorção intestinal). Aplicação direta no liquor (meningite bact.)
- **Nefrotóxico e ototóxicos. Cautela. Níveis do fármaco no soro e creatinina devem ser medidos**
- **Macrolídeos (*Streptomyces erithreus*) - Bacteriostático**
- Atua na subunidade 50S bloqueando a síntese proteica. Impede movimento de translocação do ribossomo
- Eritromicina – primeira droga do grupo
- Tratamento de escolha para Legionella (BG-) e **Mycoplasmas (sem parede celular)**, espiroquetas
- **Amplo espectro e uma das fármacos menos tóxicos para o homem**
- **Solução para pacientes alérgicos à penicilinas**
- **Azitromicina, claritromicina- Espectro mais amplo para outros organismos**
- **Clindamicina- Bacteriostático (50S – inibe formação de lig. peptídicas)**
- **Anaeróbicas G+ (*Clostridium perfringens*- Gangrena gasosa) e G- (Bacteroides fragilis- infecção peritônio)**
- **Supressão microbiota (crescimento de *Clostridium difficile* resistente ao fármaco)- Colite pseudomembranosa**

Inibição da síntese de ácidos nucleicos

- **Sulfonamidas (Sintético)- Bacteriostática**
- Inibe síntese de metabólitos
- Ác. Fólico (precursores de purinas (A, G, T) do DNA. Crescimento bacteriano.
- Análogas ao PABA (Compete com sítio catalítico da enzima dihidropteroato sintase
- Toxidade seletiva alta para bactérias. Sintetizam ác. Fólico a partir do PABA.
- Trimetoprim+sulfametoxazol= sinergia (evita a resistência)
- Infecções trato urinário (E. coli) Otite média (S. pneumoniae), H. influenzae, Shigella, etc



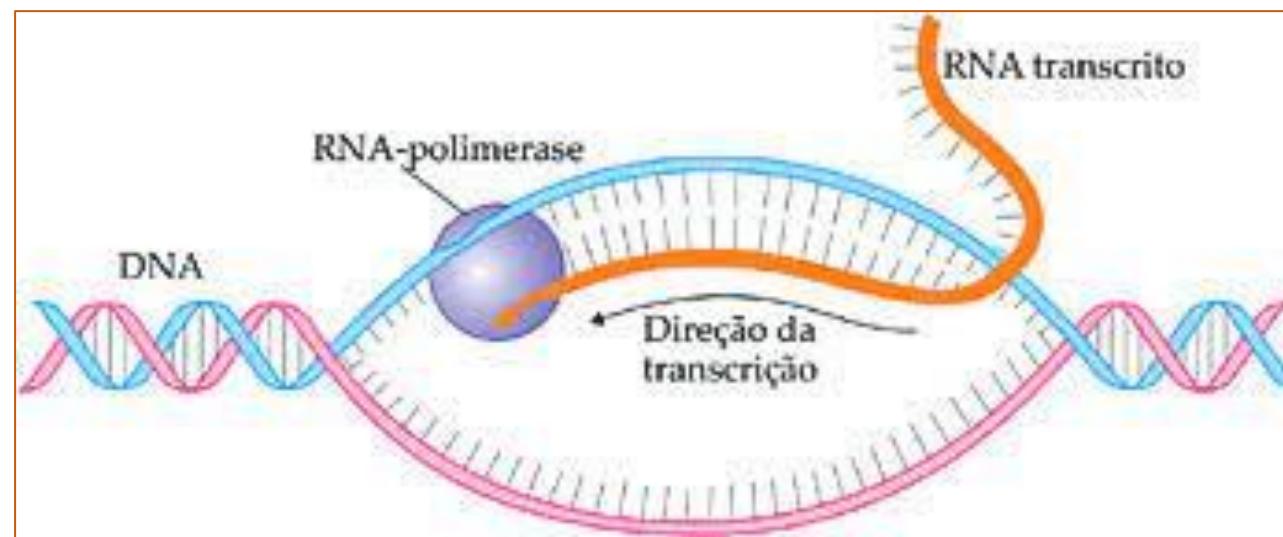
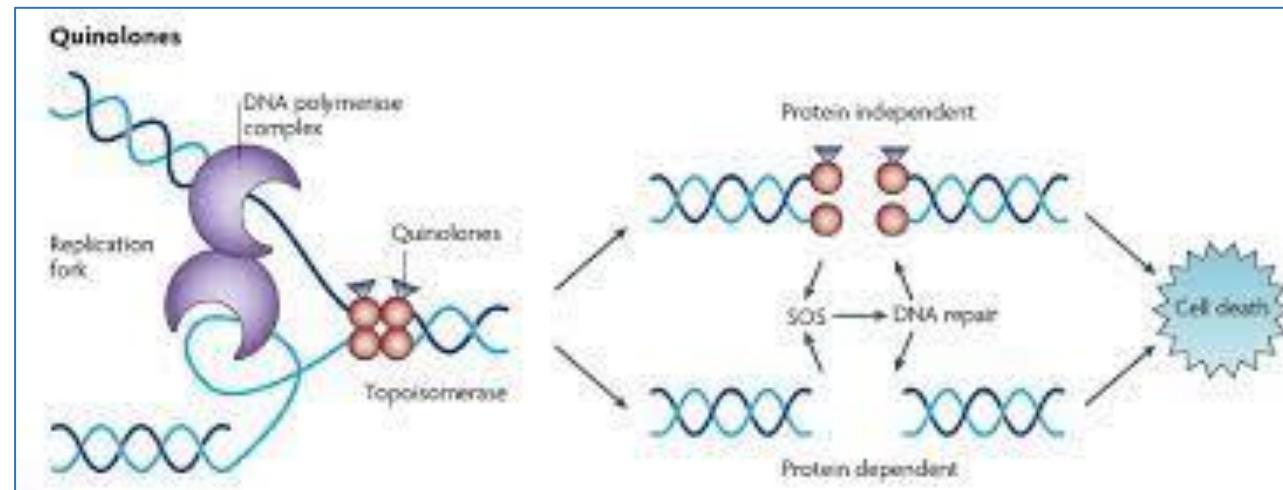
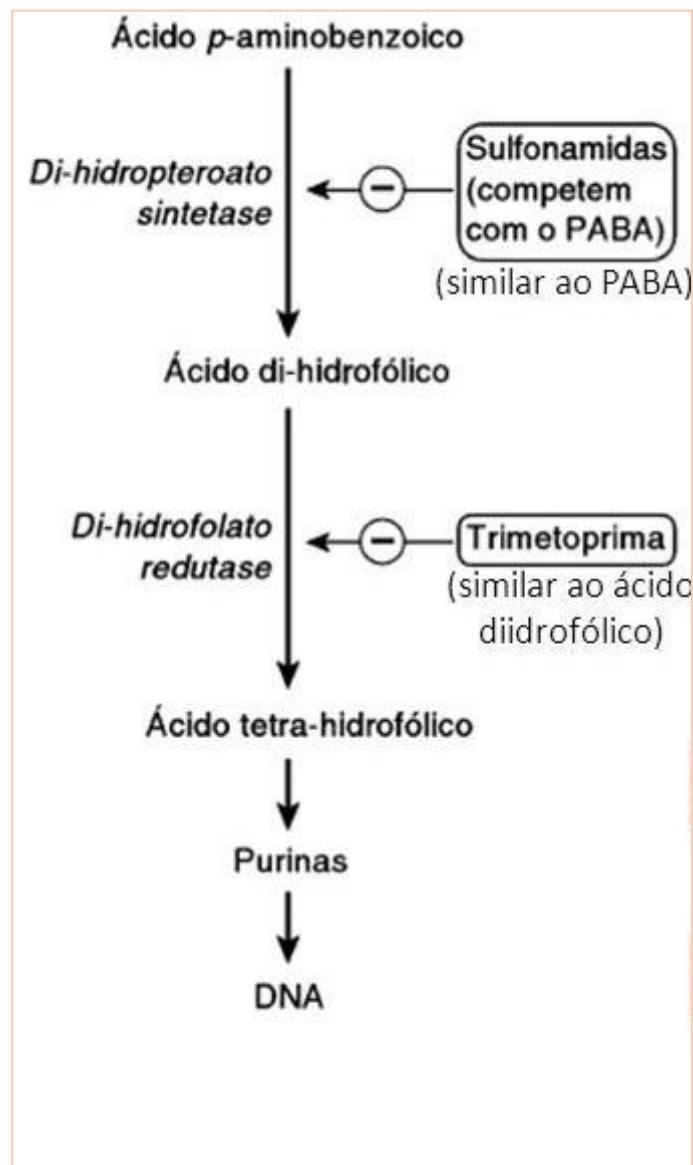
Quinolonas e fluorquinolonas (sintéticas)- Bactericidas

- Inibem a síntese de DNA
- Atuam em uma gama de bactérias patogênicas
- Inibição da ação da DNA girase (topoisomerase IV- alvo esp.)- desenrolamento da fita
- Quinolonas : Ác. Nalidixico (menos ativo) - infecção urinária
- Fluorquinolonas : norfloxacina, ciprofloxacino- infecções urinárias, trato respiratório
- Trato gastrointestinal, infecções nos tecidos esqueléticos e moles.
- Evitar- Grávidas e crianças- interfere na formação dos ossos

Rifamicina (semi-sintético)- bactericida

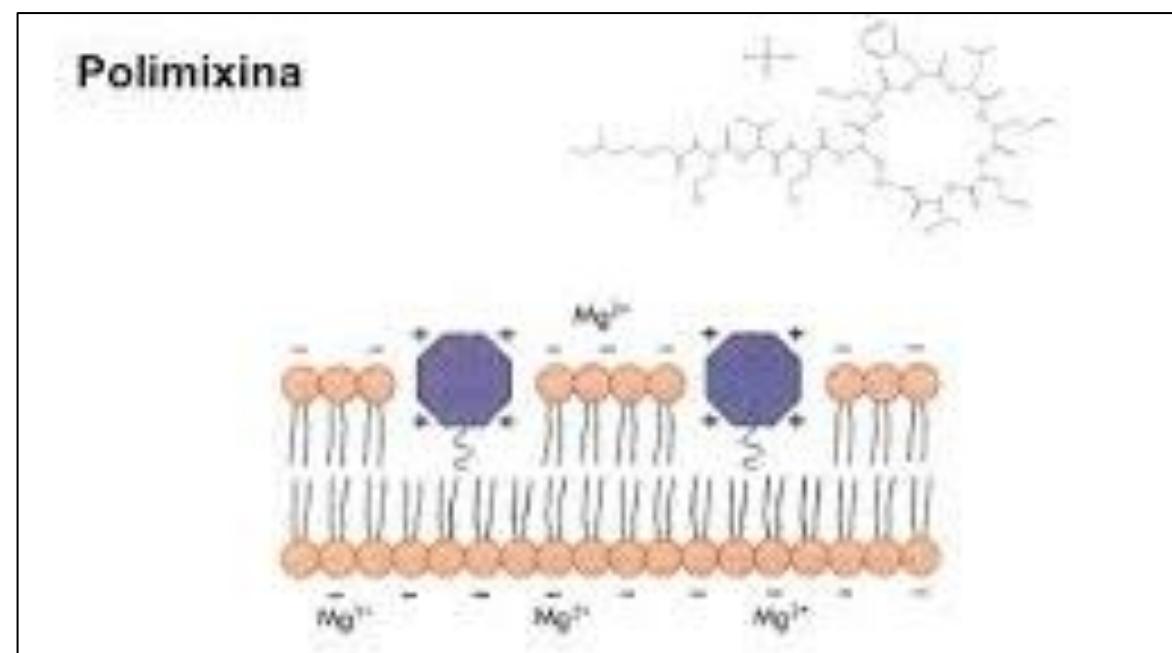
- Inibe a síntese de mRNA. Se liga à RNA polimerase bacteriana
- Rifampicina. Atua principalmente sobre M. tuberculosis (penetração em Macrófagos)
- Boa penetração no líquor cérebroespinhal (N. meningitidis, H. Influenzae)
- Rifabutina (Atua em Mycobacterium avium em paciente com AIDS)

Inibição da síntese de ácidos nucleicos



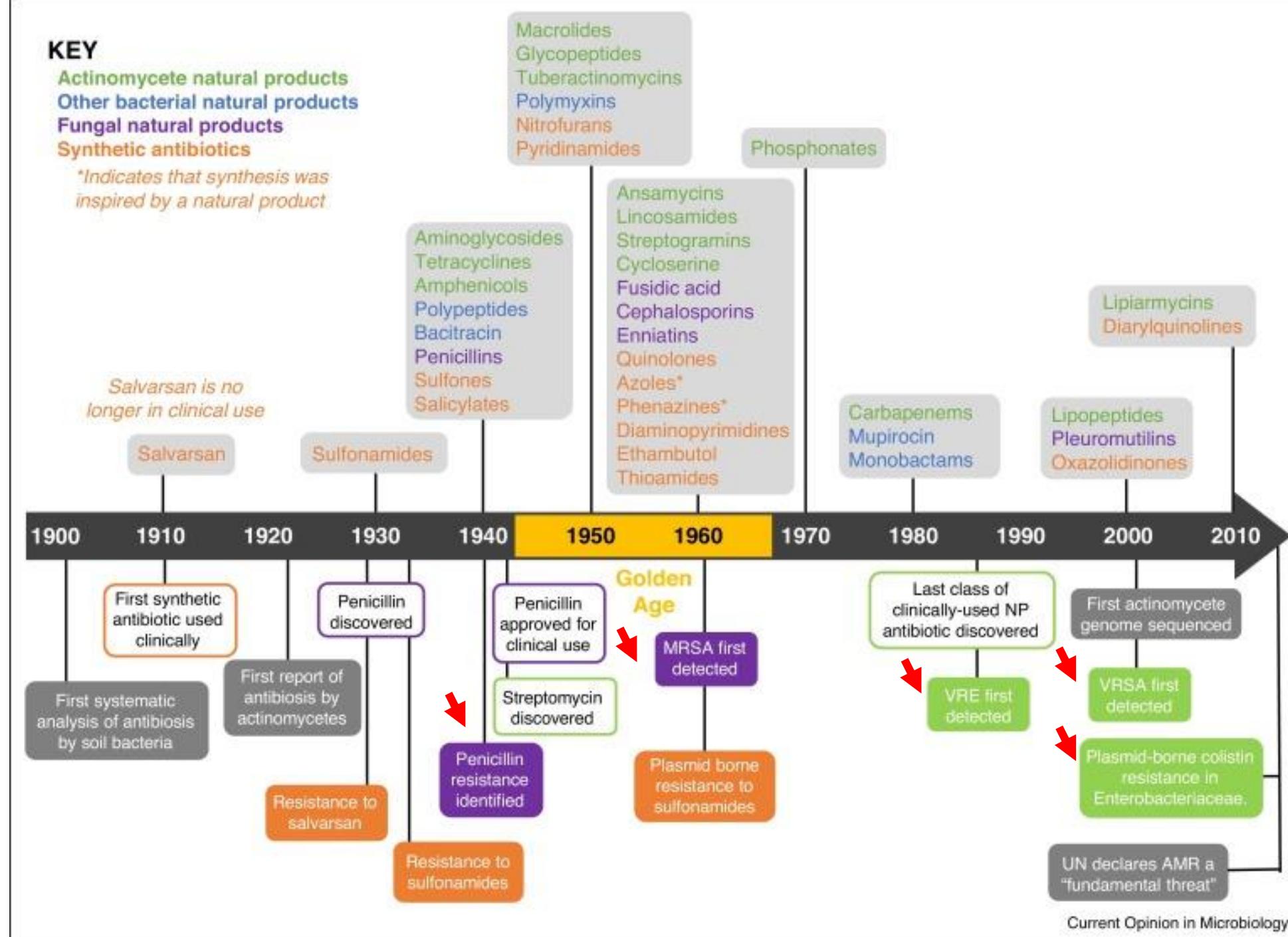
Danos à membrana plasmática

- Polimixinas (semi-sintético-Bacillus colistinus, Bacillus polymyxa)- bactericida
- Rompem os fosfolipídios da membrana plasmática bacteriana.
- Inativa a permeabilidade da MP (substâncias essências escapam)
- Age bem em bactérias G-. Pseudomonas, E. coli, Salmonella
- Polimixina B (severa neuro e nefrotóxicidade)
- Polimixina E (**colistina**- reduz toxicidade).
- Muito indicado pra bactérias multiresistentes.
- Não induz resistência

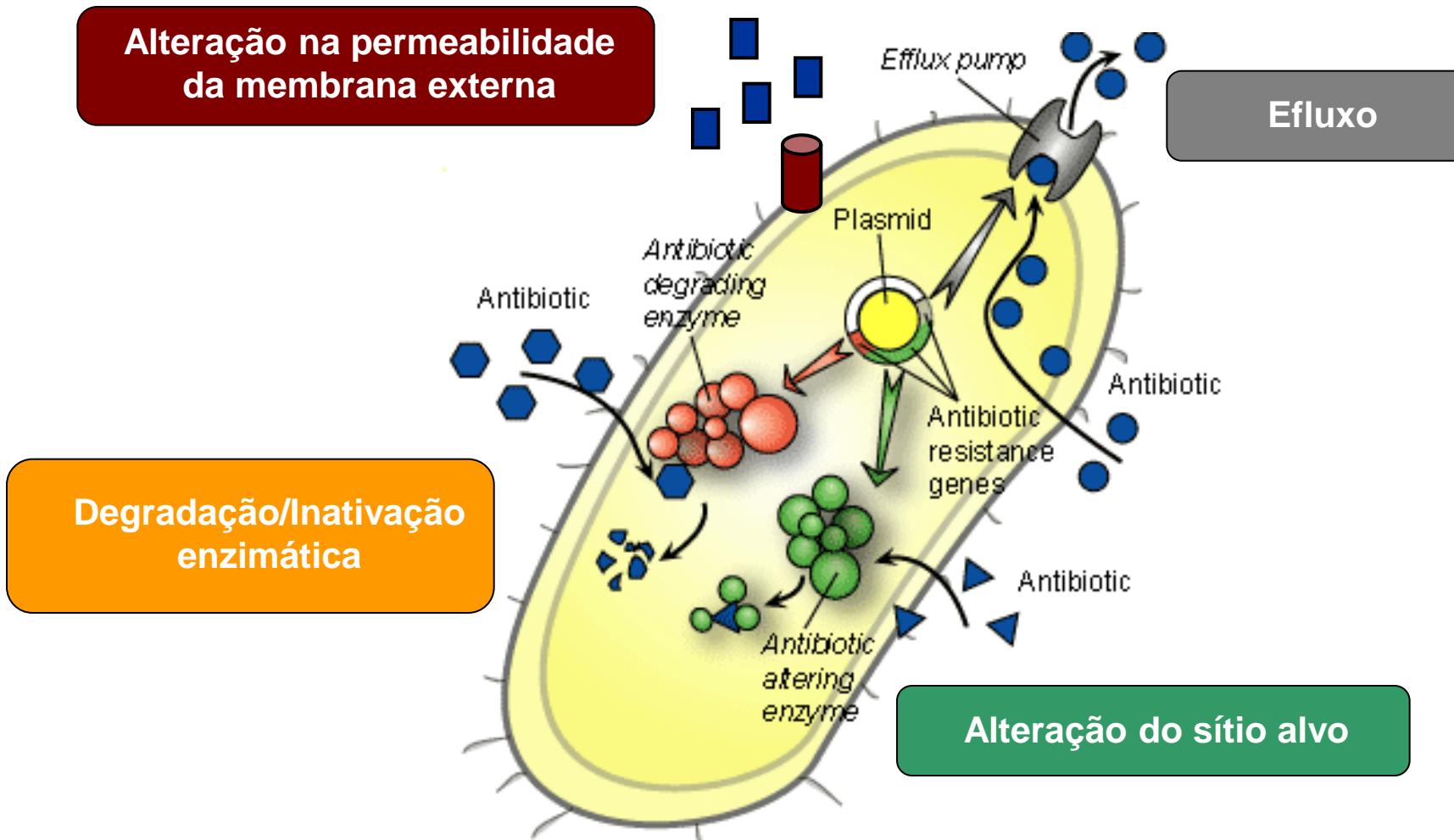


Antibióticos : Passado , presente , futuro

Atualmente:
Em 2019 , 45
antibióticos em
fase de
experimento
(2019)



PRINCIPAIS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA BACTERIANA



Base genética da resistência aos antibióticos

Mutação cromossomal x fármaco afetado

1. Modificação de alvos bacterianos

- Alteração das enzimas PBP's- Penicilinas , Meticilina
- Alteração da sub. 30S- estreptomicinas
- Substituição do aminoácido D-Alanina na cadeia lateral no peptídeoglicano- Vancomicina
- Alteração na DNA girase- Quinolonas
- Alteração na RNA polimerase- Rifampina
- Deleção de genes que forma catalase-peroxidase- Isoniazida
- Alteração da enzima que degrada o PABA- Trimetoprim

2. Redução da permeabilidade do fármaco

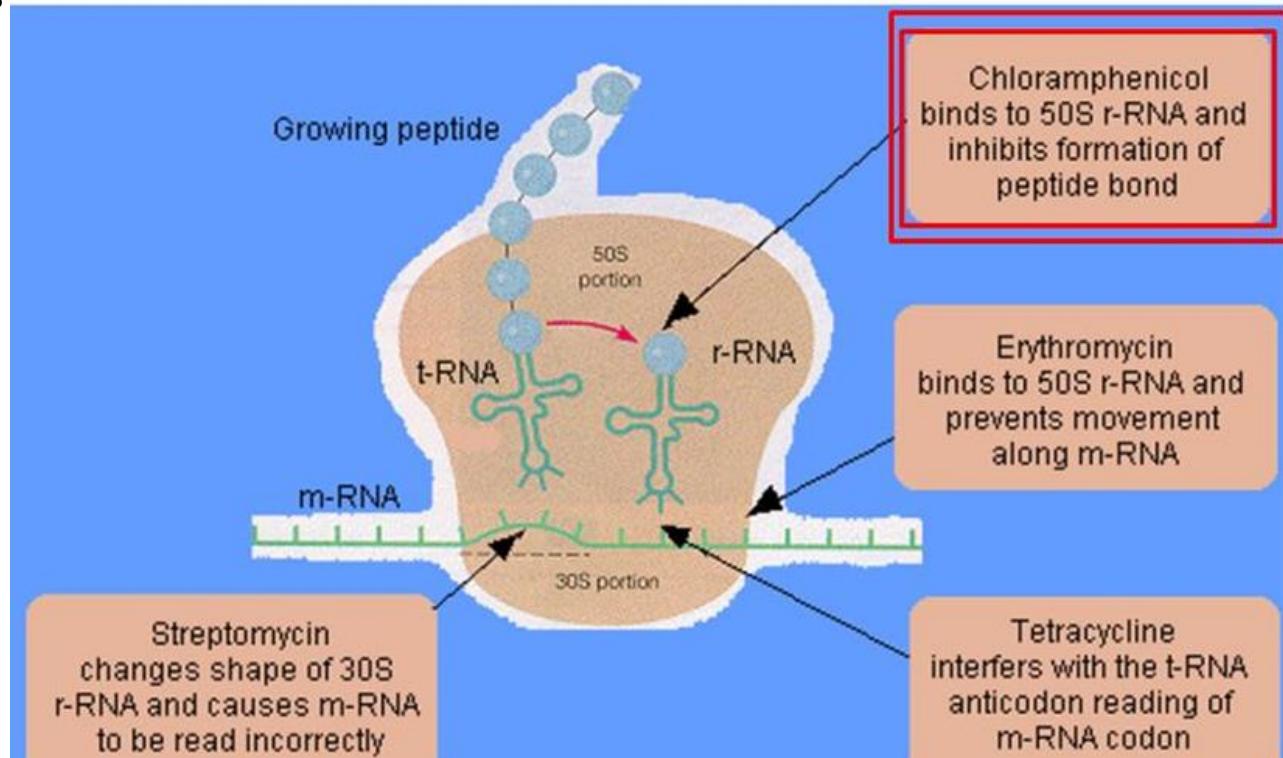
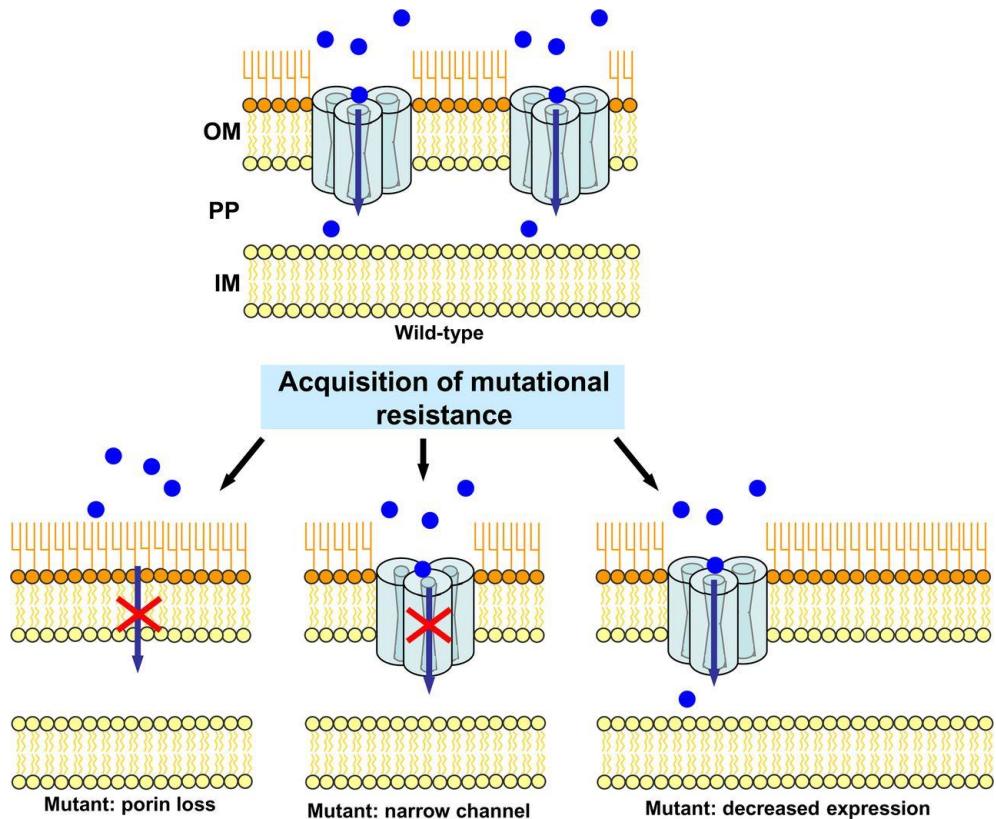
- Alteração de tamanho/ quantidade de porinas (diminui entrada) - Penicilinas e aminoglicosídeos

3. Exportação do fármaco

- Bomba de efluxo – Tetraciclínas e Sulfonamidas

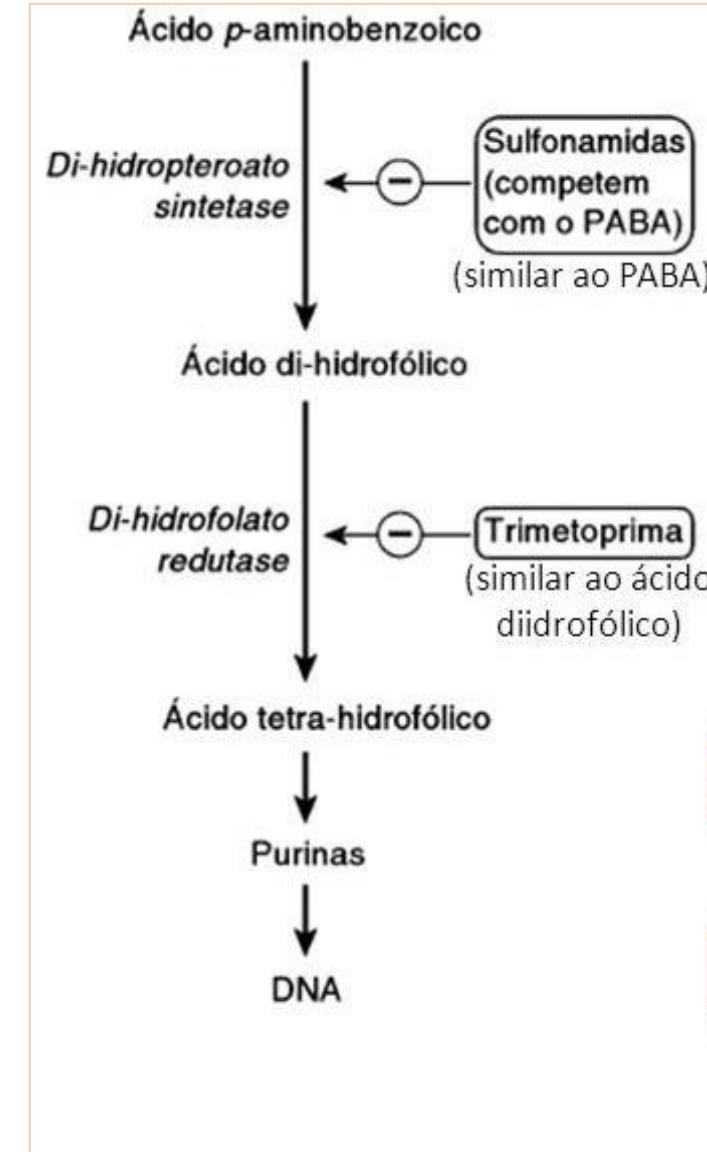
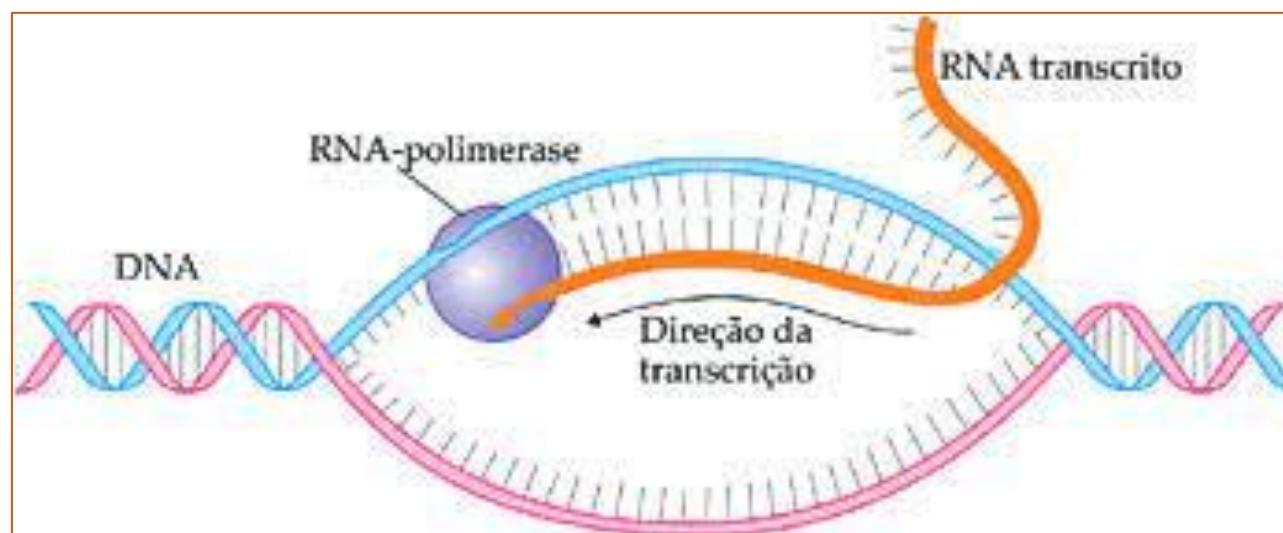
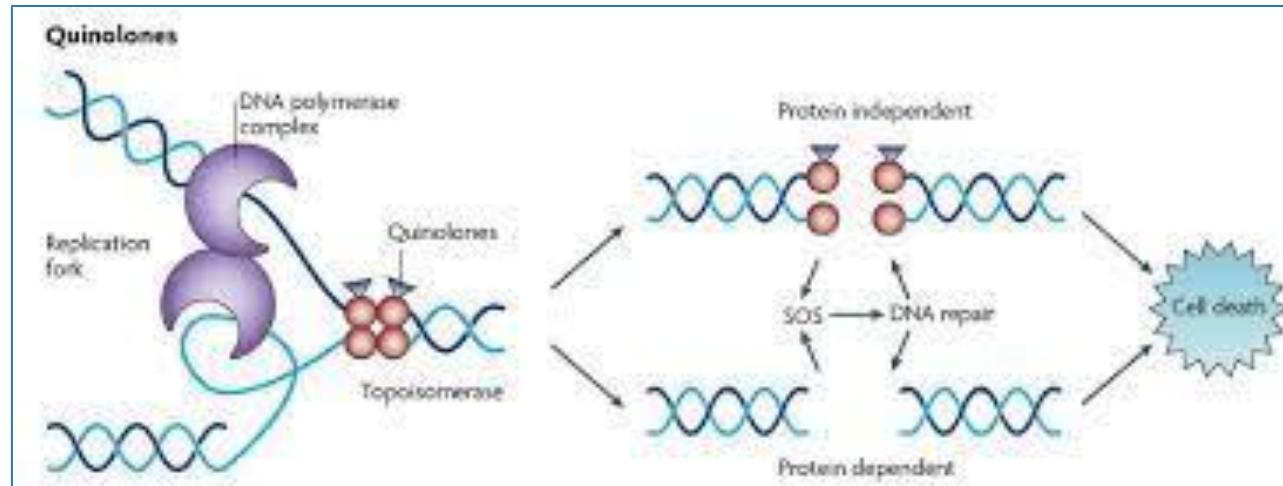


Base genética da resistência/mutação



Base genética da resistência

Mutação



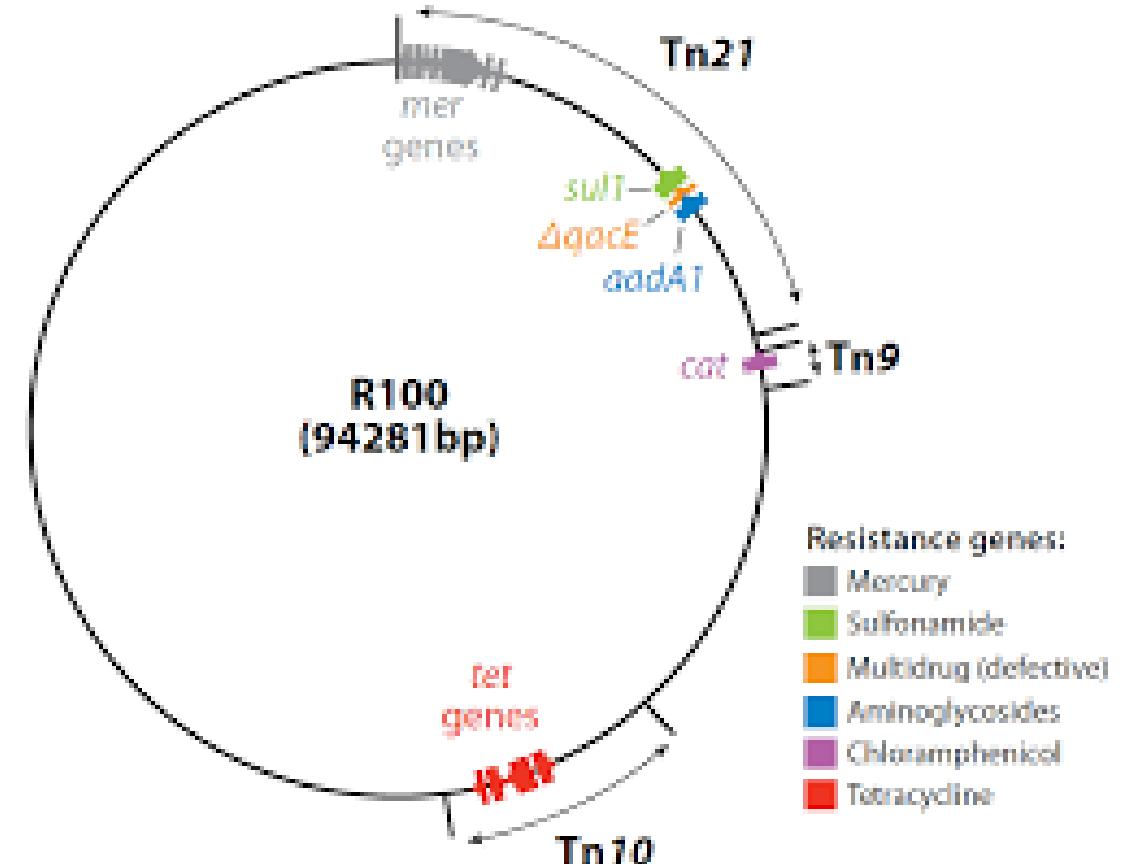
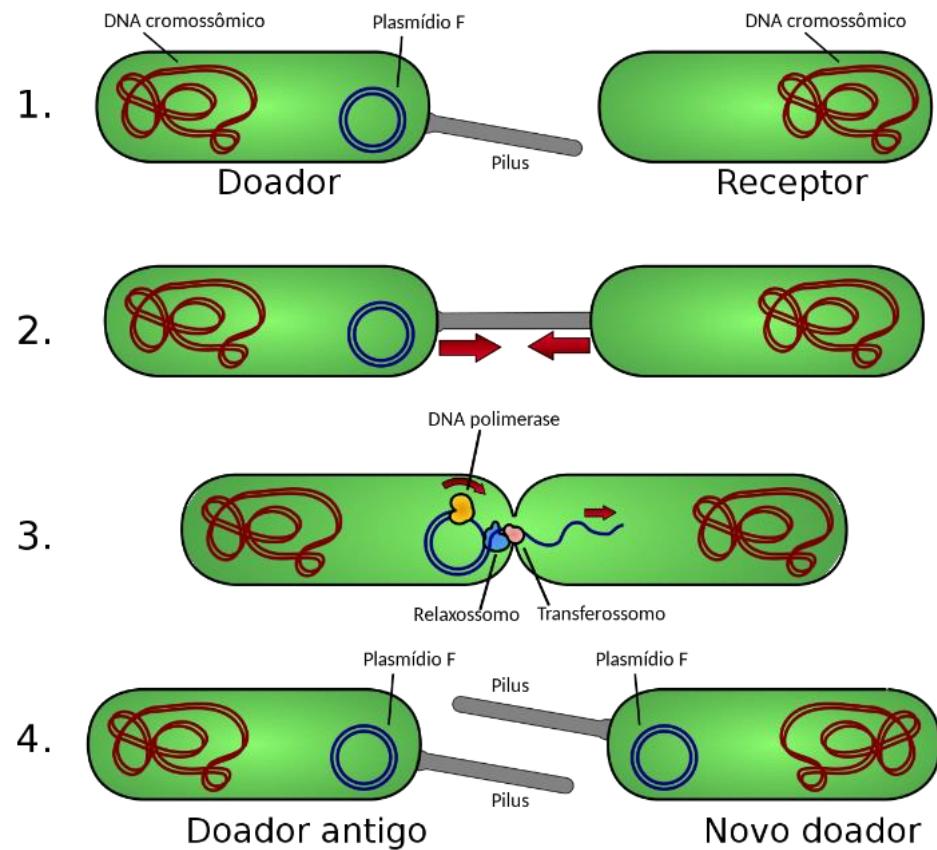
Base genética da resistência

Resistência mediada por plasmídeo

- Carreiam genes de enzimas que :
- 1. Degrada vários antibióticos (β -lactamases), metais, vírus bacterianos (endonucleases)-
- 2. Inativação do fármaco (acetilação)- Cloranfenicol
- 3. Modifica sistema de transporte de membrana (genes que produzem a bomba de efluxo – Teraciclinas, Sulfonamidas, Eritromicina

- Plasmídeo de resistência (Fator R)
- Ocorrem em várias espécies diferentes. Princ. Bacilos G-(*E. coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, etc
- Medeiam resistência a múltiplos fármacos (2 ou mais)
- ***"ATB que seleciona uma bactéria resistente a um ATB específico, vai tornar essa bactéria resist. a todos ATBs que que tem genes plasmidiais para codificar enzimas de resistência para outros antibióticos"***
- Alta taxa de transferência por conjugação (transferência de genes).

Base genética da resistência - Plasmídeos



E. coli, Salmonelas, Neisserias,

Alguns aspectos que contribuem para resistência aos ATB's

1. Uso de múltiplos ATB quando apenas um seria suficiente
2. Receita pra doenças autolimitantes (resfriado , gripe)
3. Prescrição por período desnecessariamente longo
4. Uso excessivo de ATB na profilaxia pré e pós operatória
5. Venda de ATBs sem receita médica. Uso indiscriminado
6. Uso de ATB em ração animal para prevenir infecções e promover crescimento.
(Setor que mais utiliza ATB no mundo)
7. Uso para prevenção de infecções em imunodeprimidos

1) Há uso irracional de antimicrobianos?

Table I. Classification of parenteral antimicrobial requests according to the modified Kunin and Jones categories [25,26].

Category	Instances of prescription	%	
Appropriate (A)	480	49.8	
Probably appropriate (PA)	150	15.6	
Unnecessary (U)	74	7.7	
Excessive/redundant spectrum (E/R)	59	6.1	
Insufficient spectrum (I)	45	4.7	
Short duration or low dosing (S/L)	45	4.7	
Long duration or high dosing (L/H)	99	10.3	
Multiple errors (M)	11	1.1	

34,6% das prescrições foram consideradas inadequadas (UNESP – Botucatu)





Diagnóstico microbiológico

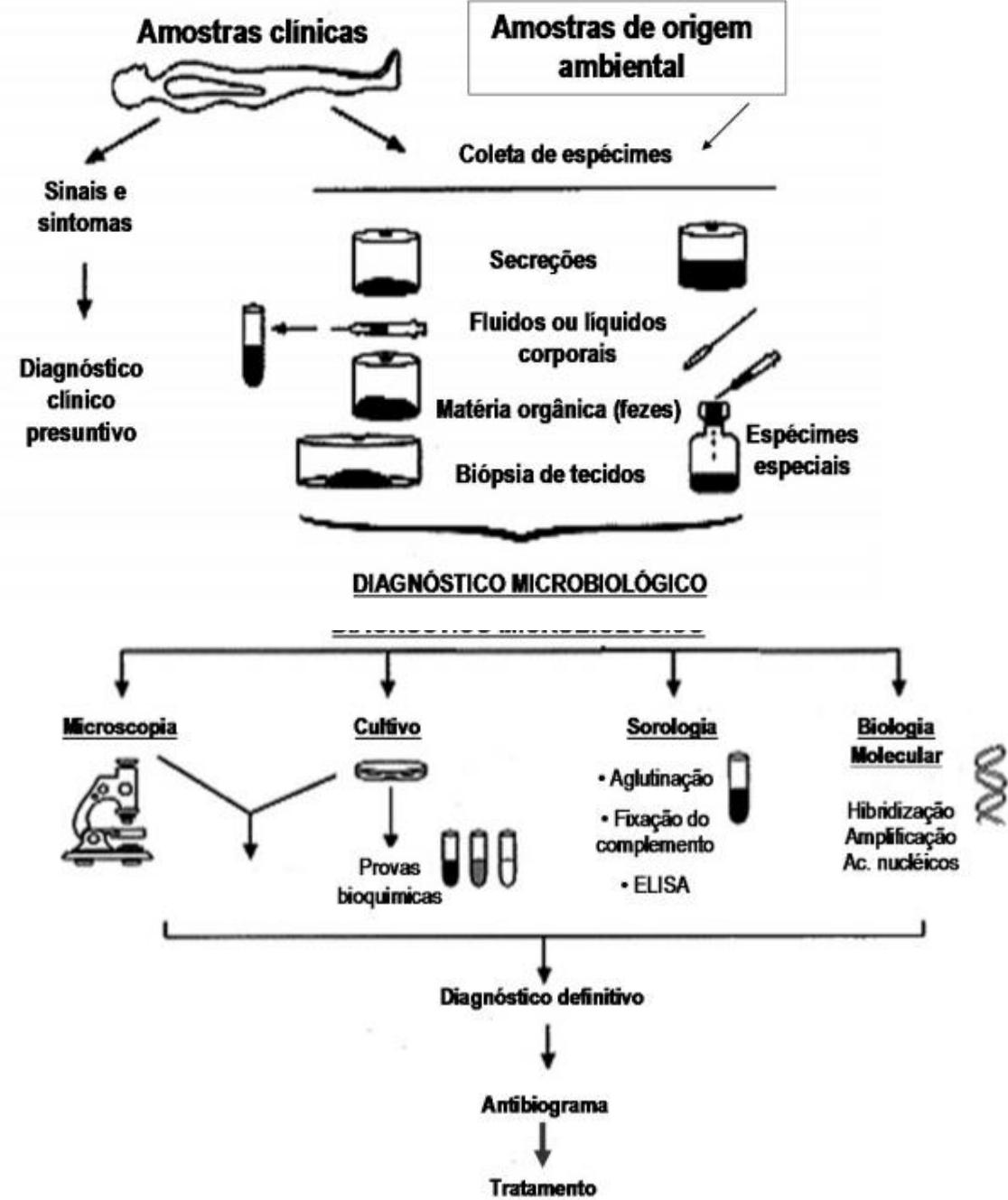
*Prof. Dr. Ricardo Rocha
ricardo.ufac@gmail.com*

Exame clínico e diagnóstico laboratorial

Diagnóstico clínico
Sinais e sintomas
Suspeita diagnóstica
Tratamento
Sítio e material a ser coletado

Diagnóstico laboratorial

- Identificação agentes envolvidos em patologias
- Suporte para o diagnóstico/tratamento clínico
- Investigação epidemiológica
- Investigação científica



COLETA E TRANSPORTE DE AMOSTRA BIOLÓGICA

Materiais estéreis e Esterilizados

Antissepsia, esterilização material usado coleta, EPI's

Sítio de coleta (local da infecção)

infecção pulmonar: Raio X, Biópsia

Meningite: punção lombar (fluido espinhal)

Hanseníase: Material da área afetada (exame microscópico)

Cólera: Exame de fezes

Ponta de catéteres



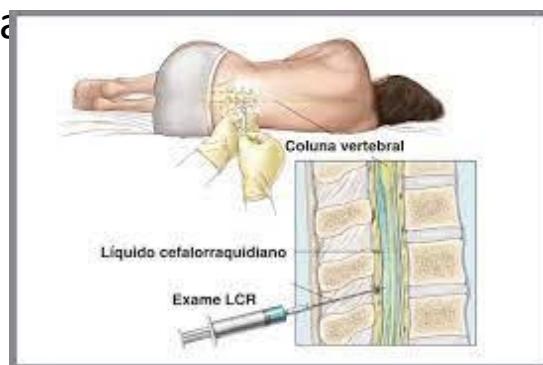
Amostra deve ser **representativa** do processo infeccioso:

Deve ser realizada **ANTES** do inicio de antibiótico-terapia

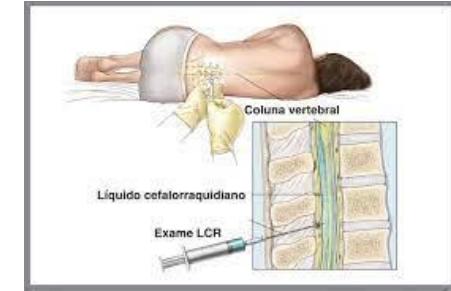
Escarro – e não saliva

Pús da lesão – e não do trato fistuloso

Swab da porção profunda da ferida e não da superfície



COLETA E TRANSPORTE DE AMOSTRA BIOLÓGICA



- A amostra deve ser levada o mais rápido possível para o lab analyses, podendo ser utilizado meios especiais de transporte (evitar ressecção e morte dos espécimes da amostra)
- O tipo de amostra deve corresponder ao quadro clínico. **Na ausência de sinais ou sintomas que indiquem a localização, deve ser coletados: Sangue, Urina, para cultura.**
- Deve ser considerado:
 - Coleta de sitio normalmente estéril (sangue, líquido cefalorraquídiano, líquido articular, líquido preural): Qualquer achado é significativo
 - Coleta de sitio com Microbiota normal do corpo humano pode inviabilizar o diagnóstico microbiológico

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

Exame direto e Cultura

Características da célula bacteriana – morfotintoriais

Cocos

Bacilos

Espirais

Características da colônia bacteriana- forma, odor, textura

Forma e organização (coloração)

Testes bioquímicos

Metabolismo (enzimas) –

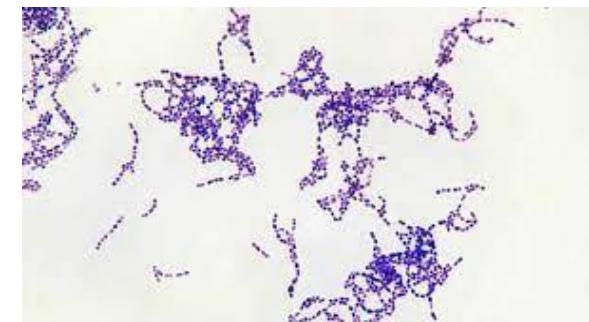
Aeróbicas e Anaeróbicas

Fermentativas e não fermentativas

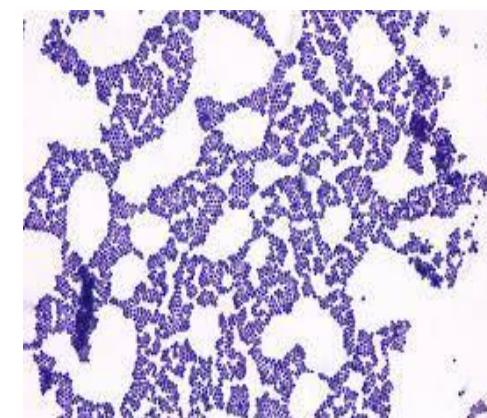
Susceptibilidade à antibióticos (Sensíveis e Resistentes)

Anticorpos e抗ígenos (Imunodiagnóstico)

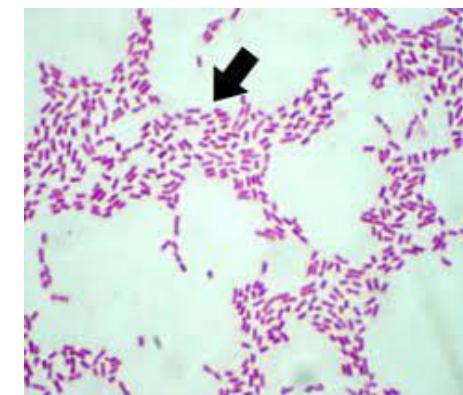
DNA e RNA (Detecção de ácidos nucleicos)



Streptococcus spp



Staphylococcus spp



BGN

Definição do meio de cultura que será utilizado

Coloração de gram (maioria das bactérias)

Cristal violeta

Lugol (fixador)

Alcool ou Acetona

Azul ou vermelho

Coloração álcool resistente (BAAR- TB)

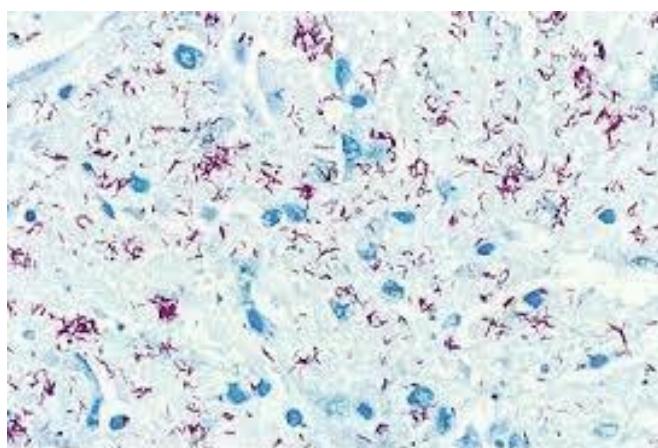
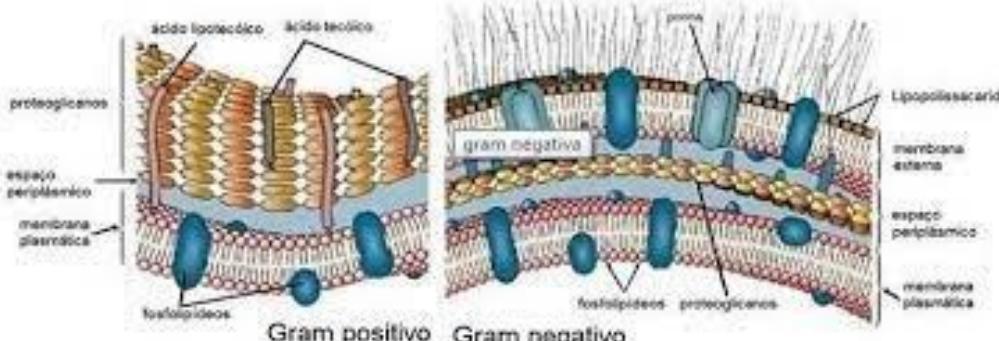
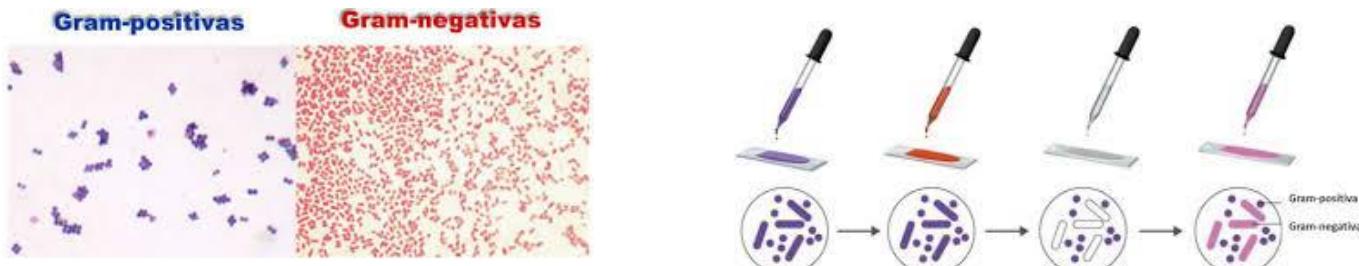
Ácido micólico (retém a fucsina)

Lamina – Aquecer (desnaturar membranas)

Fucsina

Alcool

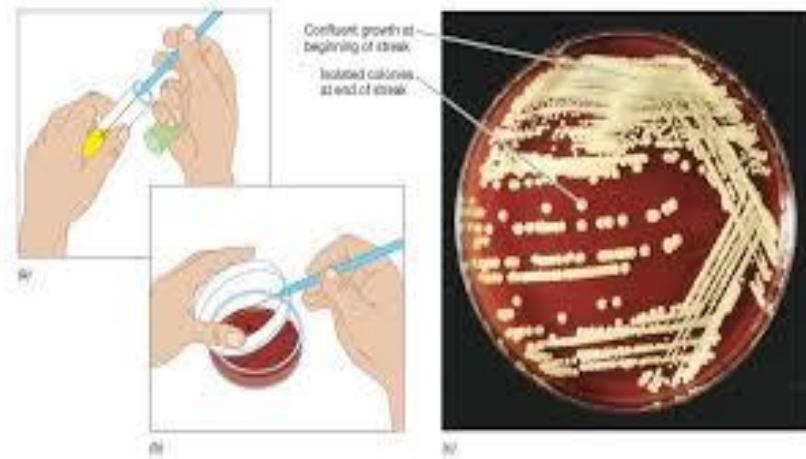
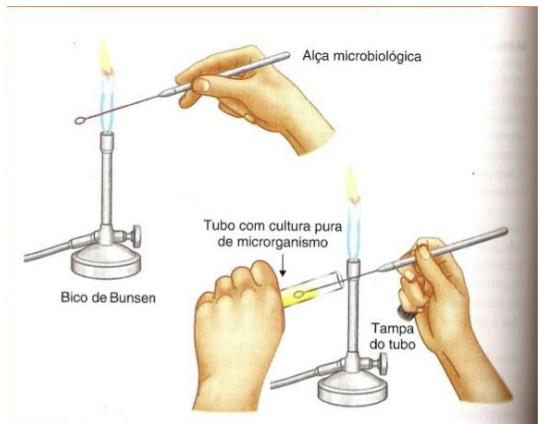
Azul de metíleno (outras células)



INOCULAÇÃO DA AMOSTRA E CRESCIMENTO DAS COLÔNIAS

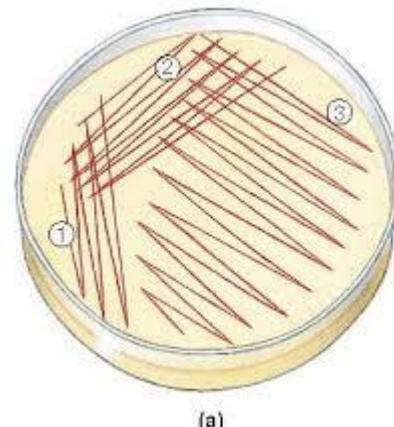
Capela bacteriológica
Fluxo negativo de ar
Inoculação
Alça bacteriológica
Esgotamento (estrias)

Crescimento
Estufa bacteriológica
Temperatura e pressão
água



Alça de inoculação

Colônias isoladas



In. Por Esgotamento



Estufa bacteriológica

MEIOS DE CULTURA

- Meios líquidos, sólidos (ágar)
- Industrializados em pó.

Meios quimicamente definido

- Quantidade precisa de compostos químicos Orgânicos ou inorgânicos
- Sabe a quantia exata de cada fator

Tabela 6.2		Meio quimicamente definido para o crescimento de um quimio-heterotrófico típico como <i>Escherichia coli</i>
Componentes	Quantidades	
Glicose	5,0 g	
Fosfato de amônio, monobásico ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{FO}_4$)	1,0 g	
Cloreto de sódio (NaCl)	5,0 g	
Sulfato de magnésio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,2 g	
Fosfato de potássio, dibásico (K_2HPO_4)	1,0 g	
Água	1 litro	

Meio definido

TABELA 6.4		Composição do Meio Agar Nutriente, um Meio Complexo para o Crescimento de Bactérias Heterotróficas
Componente	Quantidade	
Peptona [proteína parcialmente digerida]	5,0 g	
Extrato de carne	3,0 g	
Cloreto de sódio	8,0 g	
Ágar	15,0 g	
Água	1 litro	

Meio complexo

Meios complexos

- Extractos de carne, de plantas, levedura, soja
Não sabe composição exata



Preparação do meio de cultura

MEIOS DE CULTURA

Meios enriquecidos

Isolamento de organismos em pequeno número

Meio Seletivo

O meio restringe crescimento de alguns grupos e favorece outros (de interesse)

Meio Diferencial

Permite a fácil identificação

Da colônia da bactéria de interesse, dentre outras

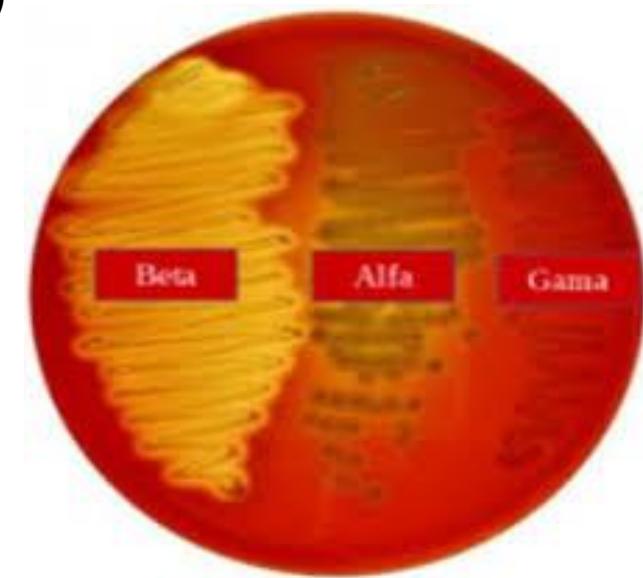
Que crescem no meio



BHI –Meio de crescimento
não fermentadores



Ágar MaConkey (gran -)
Fermen. Lactose (S+D)

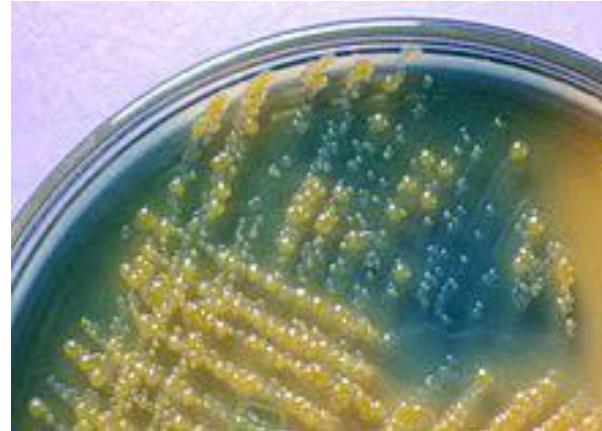


Ágar sangue de carneiro (hemólise)
Streptococos e Stafilococos (S+D)

MEIOS DE CULTURA

Meio Seletivo
Meio Diferencial

Bactérias fastidiosas – Requer a modificação
Do meio implementando outros nutrientes
Para que a bactéria de interesse cresça



Cled- Urina (E. coli)
Def. Eletrólitos



Ágar chocolate- XV
Neisserias, Haemophilus



Ágar Manitol Salgado
Stafilococos

MEIOS DE CULTURA

Meio Seletivo

Meio Diferencial (presença de enzimas)



Meio SS- Salm- Shig
Inibe G+ (H₂S)



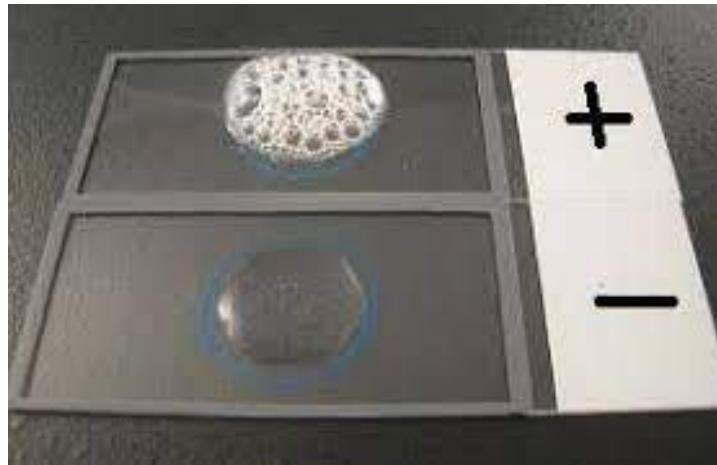
Löwenstein-Jensen
M. Tuberculosis (ovos)



Jarra de Anaerobiose
Bactérias anaeróbicas- CO₂

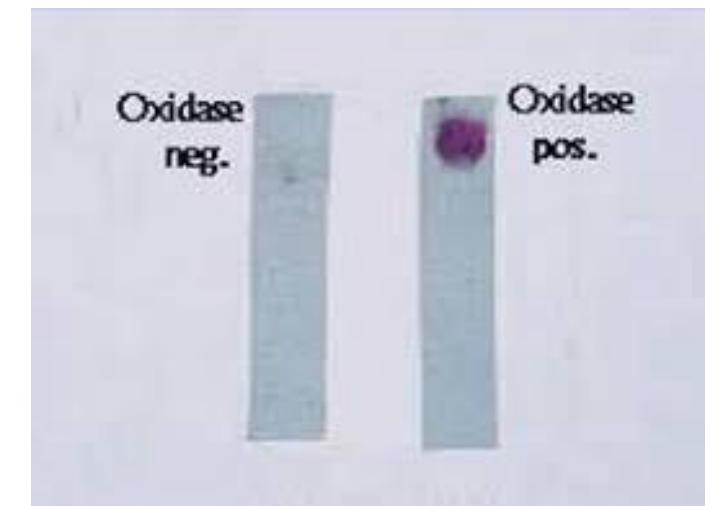
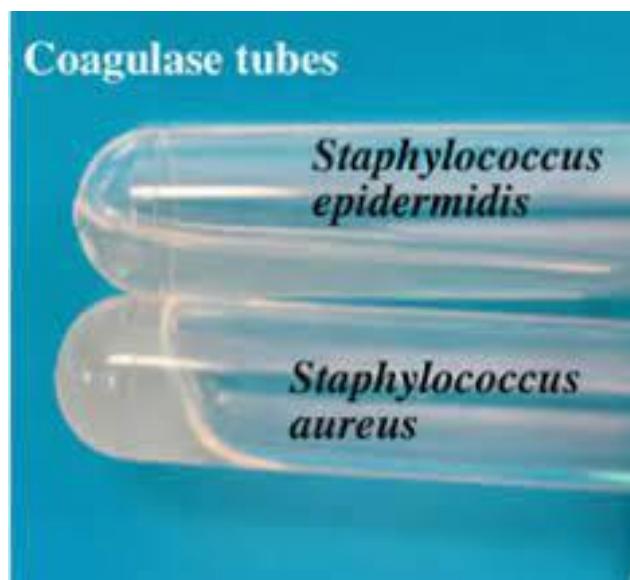
PROVAS DE IDENTIFICAÇÃO

Catalase- Enzima que degrada H₂O₂- H₂O + O₂
Aeróbicas e Anaeróbicas



Coagulase- Enzima que coagula o fibrinogênio
S. Aureus e S. Epidermidis

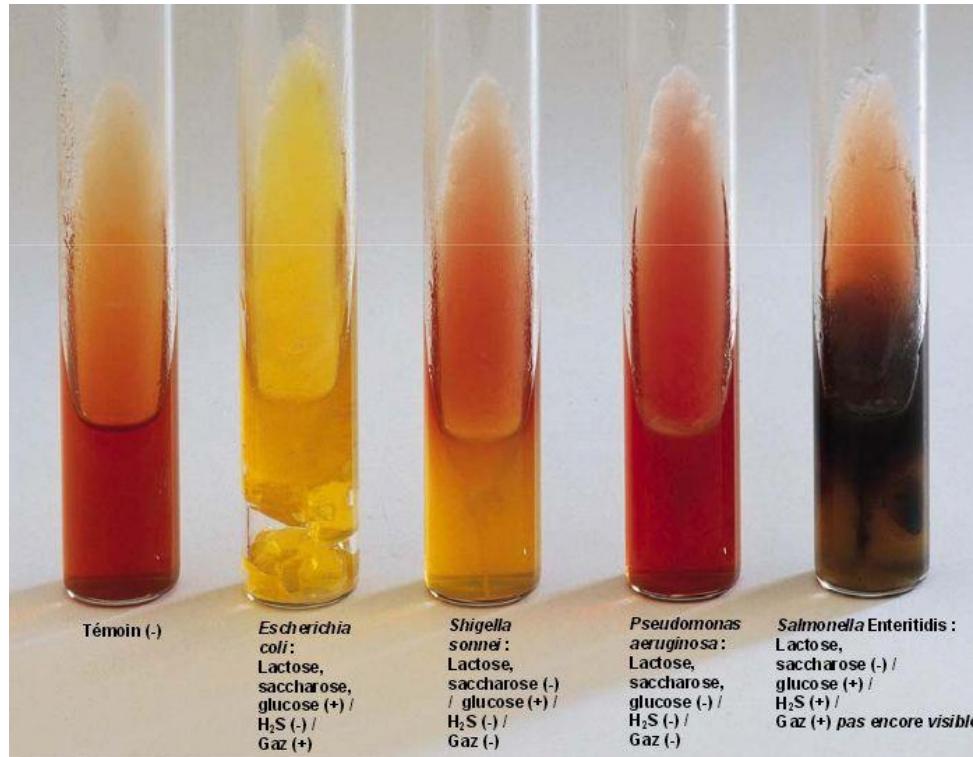
Oxidase- Enzima presente.
Não ferm (Ox +) e Fermentadores (Ox-)



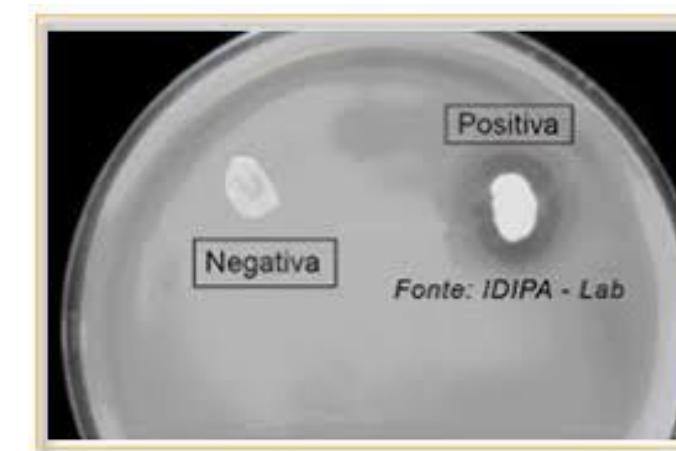
PROVAS DE IDENTIFICAÇÃO

TSI- Enzimas de carboidratos (Enterob)
H₂S e CO₂

Citrato – Utiliza Carbono do citrato de sódio
Enterobactérias e não fermentadores.



DNAase- Enzima (termoestável de degradação de DNA)
Staphylococcus aureus . Revelação HCl.



PROVAS DE IDENTIFICAÇÃO

SIM – Motilidade (E. coli e Enterococos)

Bile esculina- Bile (crescimento) Hidrólise da Esculina +-
Ferro (Negro)

Streptococcus D , Enterococcus faecalis que são BE+.



PROVAS DE IDENTIFICAÇÃO

Picada (fundo) e estriamento (superfície)

IAL- Enterobactérias

Aminoácidos:

Lisina e motilidade – Descarboxilação lisina e
Locomoção

Triptofano- Indol (vermelho)

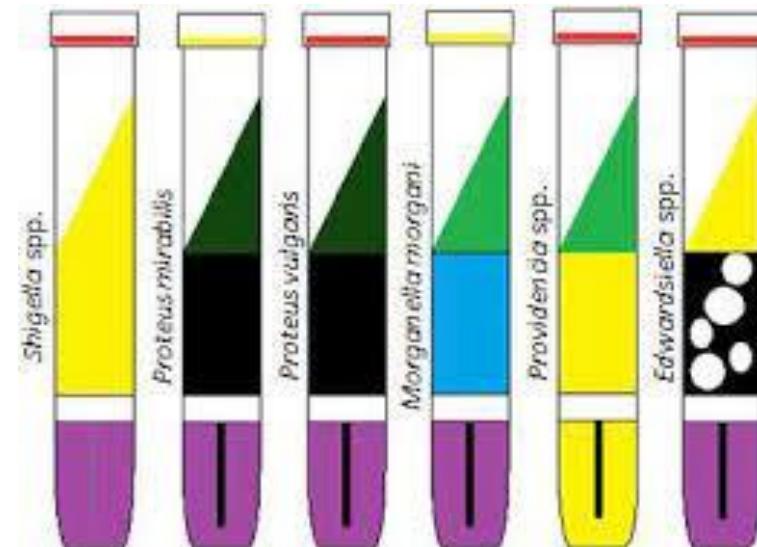
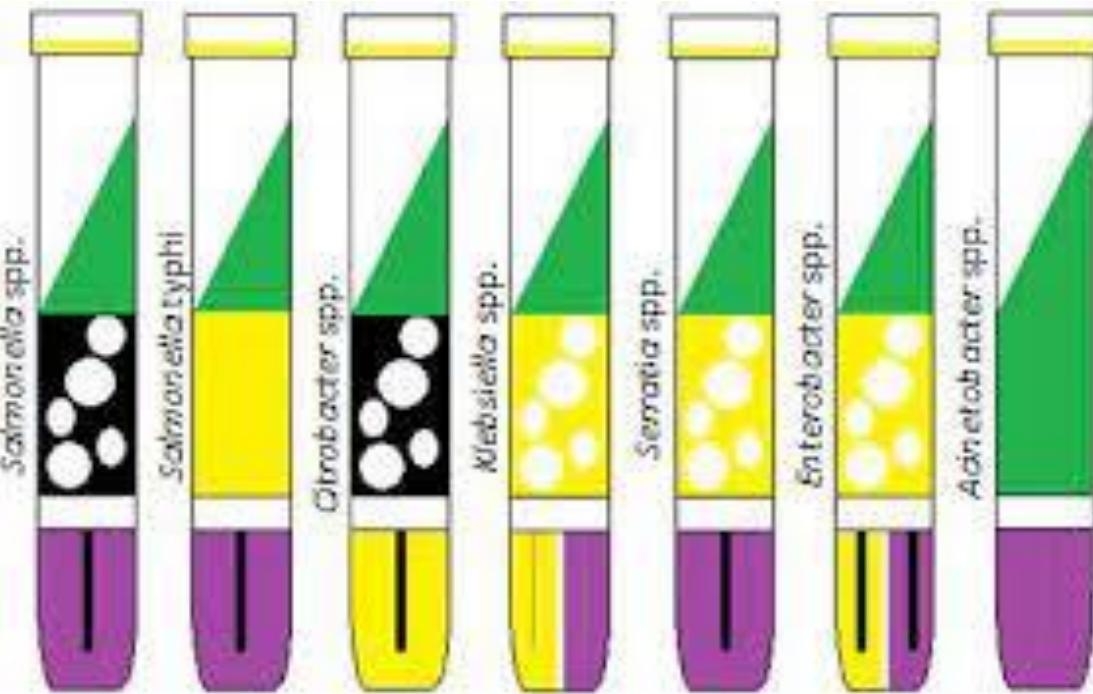
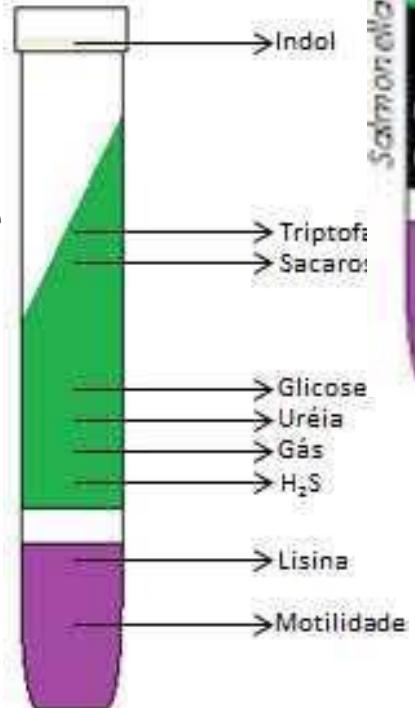
Enzimas de Carboidratos e amônia

Sacarose

Glicose

Produção de Gás

CO₂ e H₂S (negro)



SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIBIÓTICOS

Disco difusão :

Definição dos ATBs para bactéria investigada

Ágar muller hinton

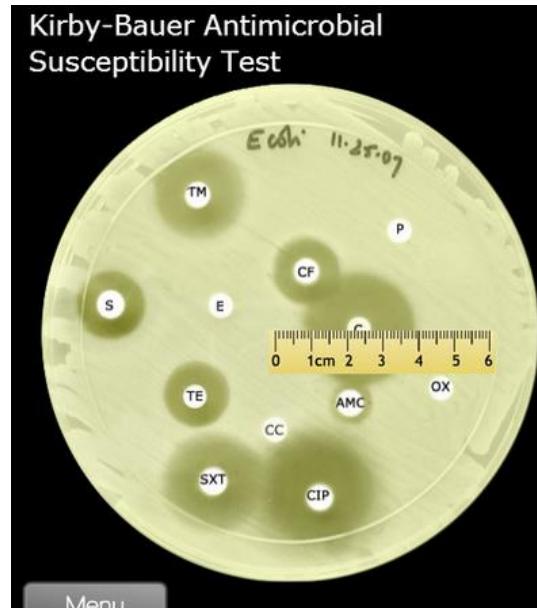
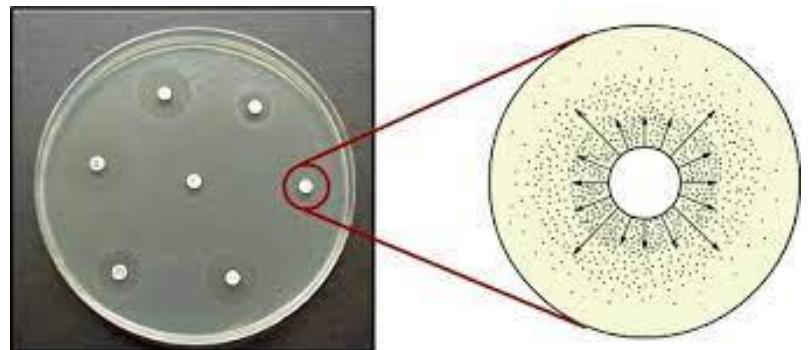
Toda placa deve ser inoculada para verificar halos

Inoculação e incuba

Difusão do antibiótico na placa

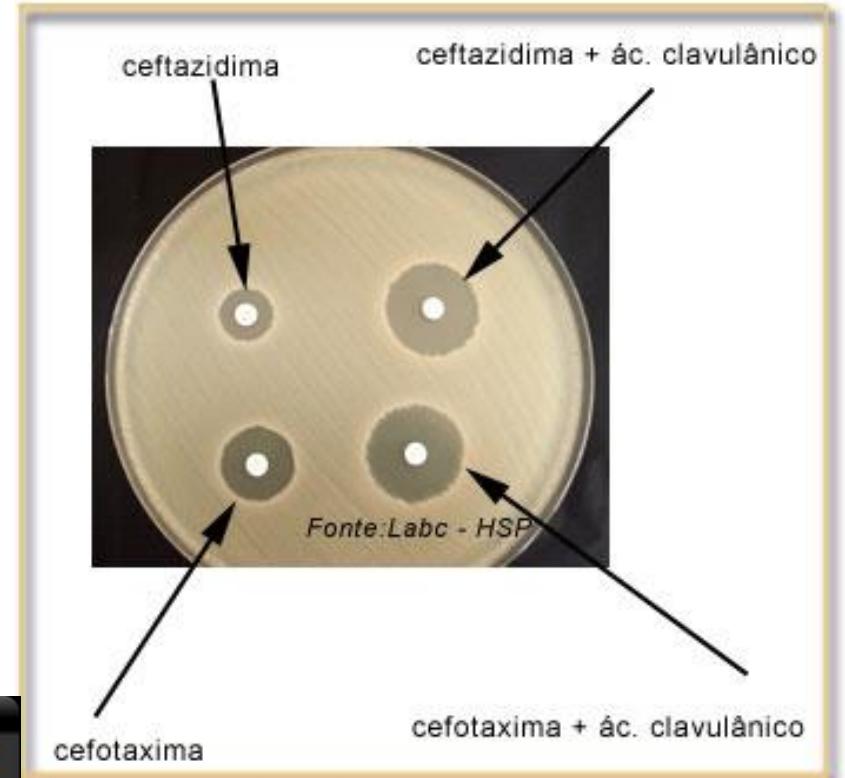
Incubar

Antibiograma (resultado)



Kirby-Bauer Table of Interpretive Standards

	Zone Inhibition Diameter (mm)		
	resistant	intermediate	susceptible
Amoxicillin (AMC)	<=13	14-17	>=18
Cephalothin (CF)	<=14	15-17	>=18
Chloramphenicol (C)	<=12	13-17	>=18
Ciprofloxacin (CIP)	<=12	13-16	>=17
Clindamycin (CC)	<=14	15-16	>=17
Erythromycin (E)	<=13	14-17	>=18
Oxacillin (OX)	<=10	11-12	>=13
Penicillin G (P) <i>S.aureus</i>			
other	<13	14-16	>=17
Streptomycin (S)	<=11	12-14	>=15
Tetracycline (TE)	<=14	15-18	>=19
Tobramycin (TM)	<=12	13-14	>=15
Trimethoprim sulfa(SXT)	<=10	11-15	>=16

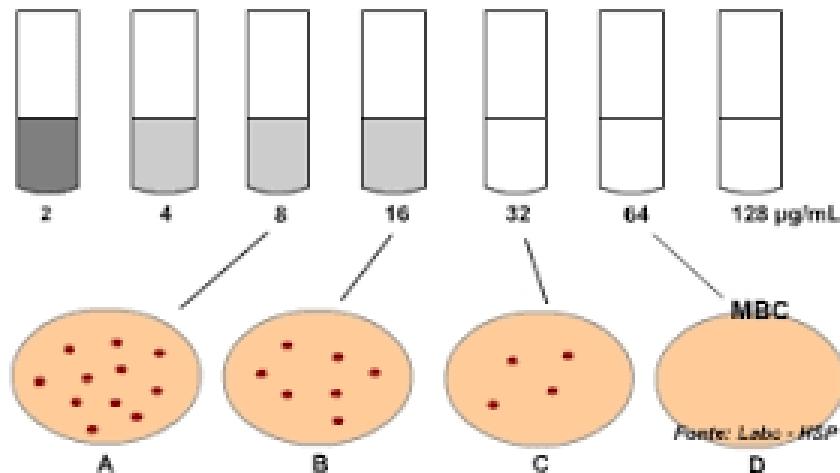


SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIBIÓTICOS

Teste em Tubos – Define a concentração do ATB

CIM- Bacteriostático (Crescimento e turbidez visível)

CBM- Bactericida (crescimento ausente em placas)



Fita teste – Verifica CIM (Concentração inibitória mínima)

TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS
Identificação e Antibiotograma (MIC) automatizados
Material clínico: aspirado de furúnculo
Bactéria isolada: *Staphylococcus aureus*

Antimicrobiano testado	Concentração Minima (MIC) aproximada	Inibitória
Ampicilina/Sulbactam	>8 µg/mL	R
Cefazolina	< 8 µg/mL	R
Clindamicina	> 16 µg/mL	R
Eritromicina	> 32 µg/mL	R
Gentamicina	< 0,5 µg/mL	S
Oxacilina	> 4 µg/mL	R
Penicilina G	> 2 µg/mL	R
Tetraciclina	< 1 µg/mL	S
TMP/SMT	< 1 µg/mL	S
Vancomicina	< 0,5 µg/mL	S



FLUXOGRAMA DE IDENTIFICAÇÃO E MÉTODO AUTOMATIZADO

Fluxograma

Protocolos definidos

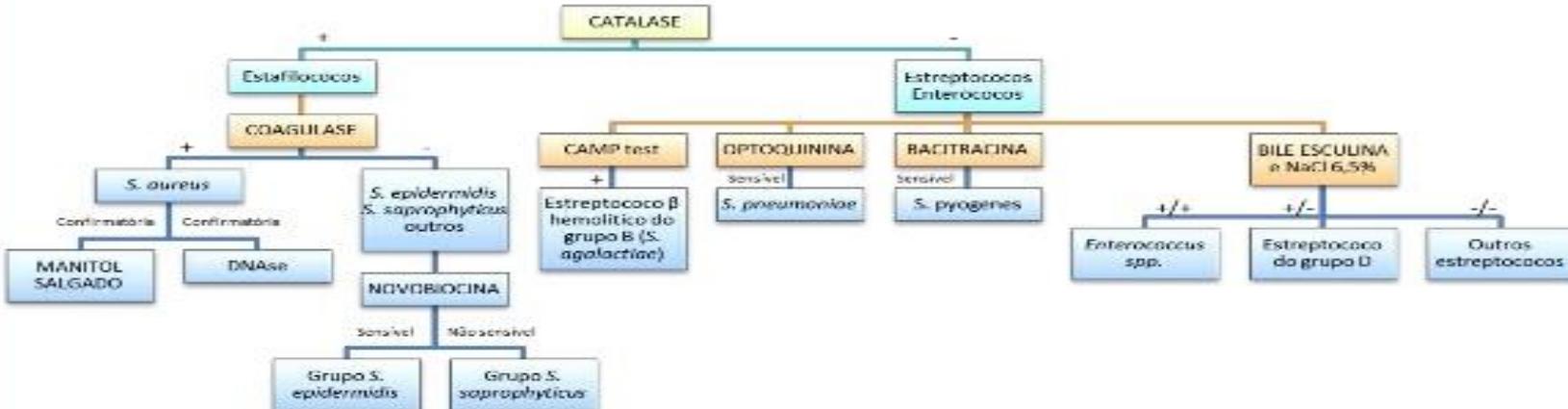
Cocos G+

Bacilos G-

BGN fermentadores (Ox-)

Celulite

Identificação de Cocos Gram-positivos



FLUXOGRAMA DE IDENTIFICAÇÃO E MÉTODO AUTOMATIZADO

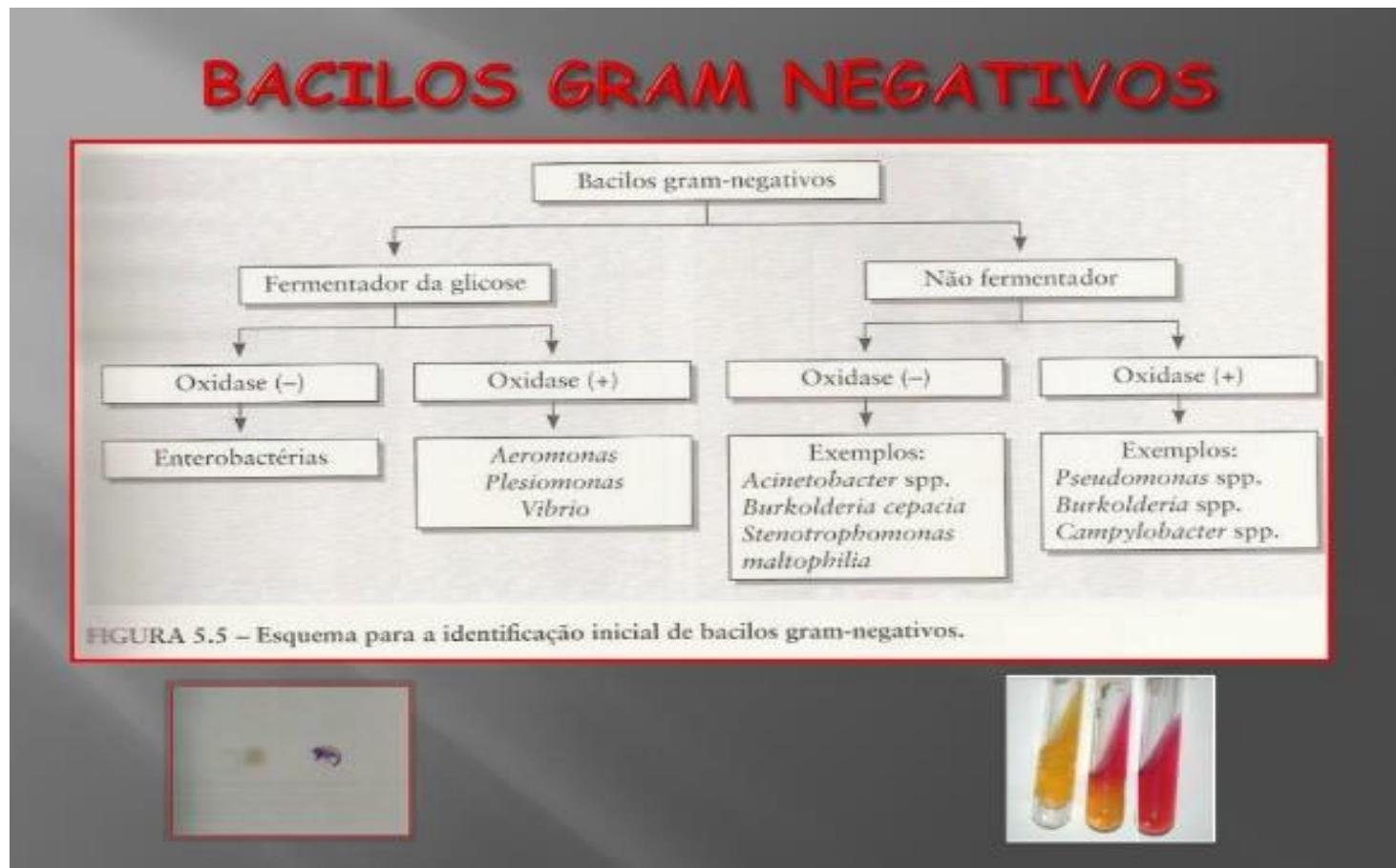
Fluxograma

Protocolos definidos

Cocos G+

Bacilos G-

BGN fermentadores (Ox-)



FLUXOGRAMA DE IDENTIFICAÇÃO E MÉTODO AUTOMATIZADO

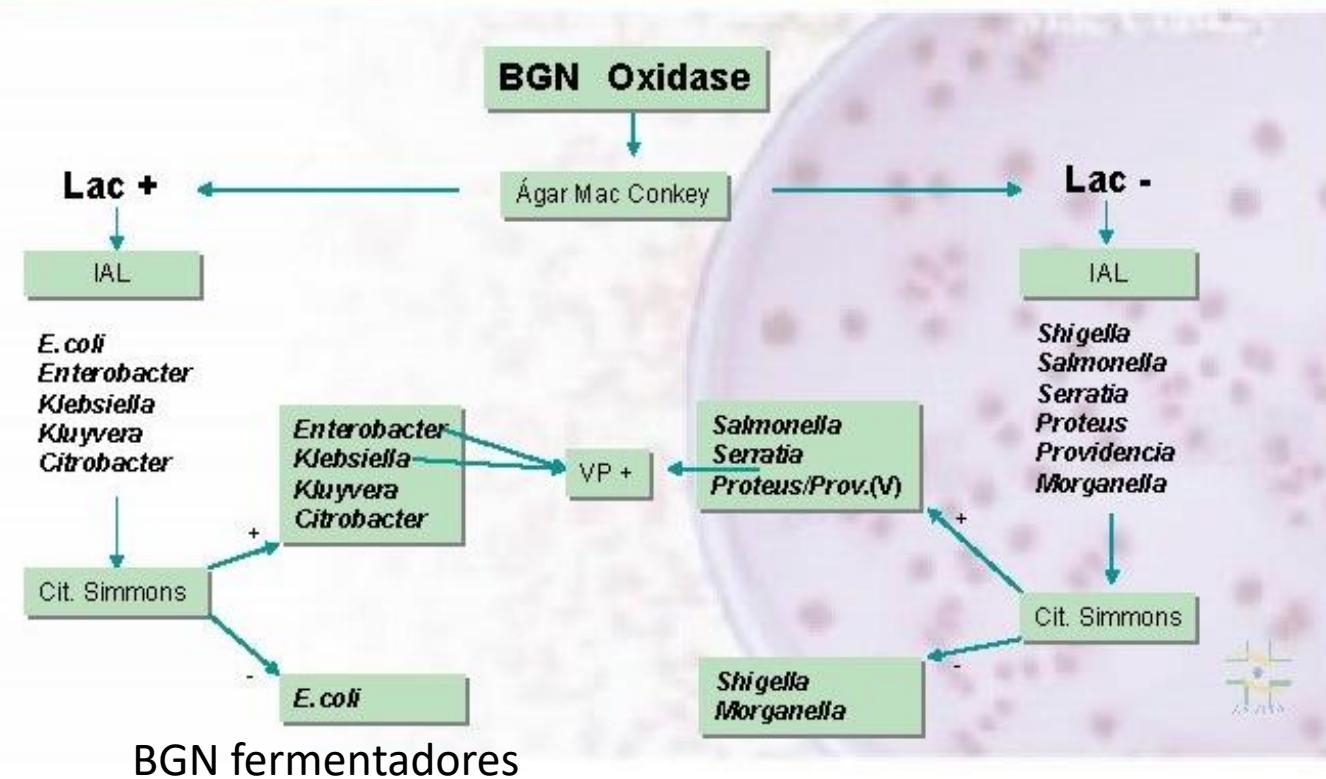
Fluxograma

Protocolos definidos

Cocos G+

Bacilos G-

BGN fermentadores (Ox-)



FLUXOGRAMA DE IDENTIFICAÇÃO E MÉTODO AUTOMATIZADO

Método automatizado

Painel de provas

Canaletas impregnadas

Testes bioquímicos

Antibióticos

Qualidade do Kit

Resultados interpretados e registrados

Grandes centros de saúde

Custo elevado



The image shows a MicroScan® Neg/Unice Combo Panel Type 55. The top section, labeled "Spec.", contains a grid of color-coded wells used for biochemical identification. The bottom section, labeled "ID/TS", contains a grid of wells used for determining susceptibility to various antibiotics. A legend on the left indicates that yellow-green indicates growth (positive) and clear indicates no growth (negative). A blue bracket on the left points to the bottom section, and another blue bracket on the right points to the top section.

Painel de provas

IMUNODIAGNÓSTICO

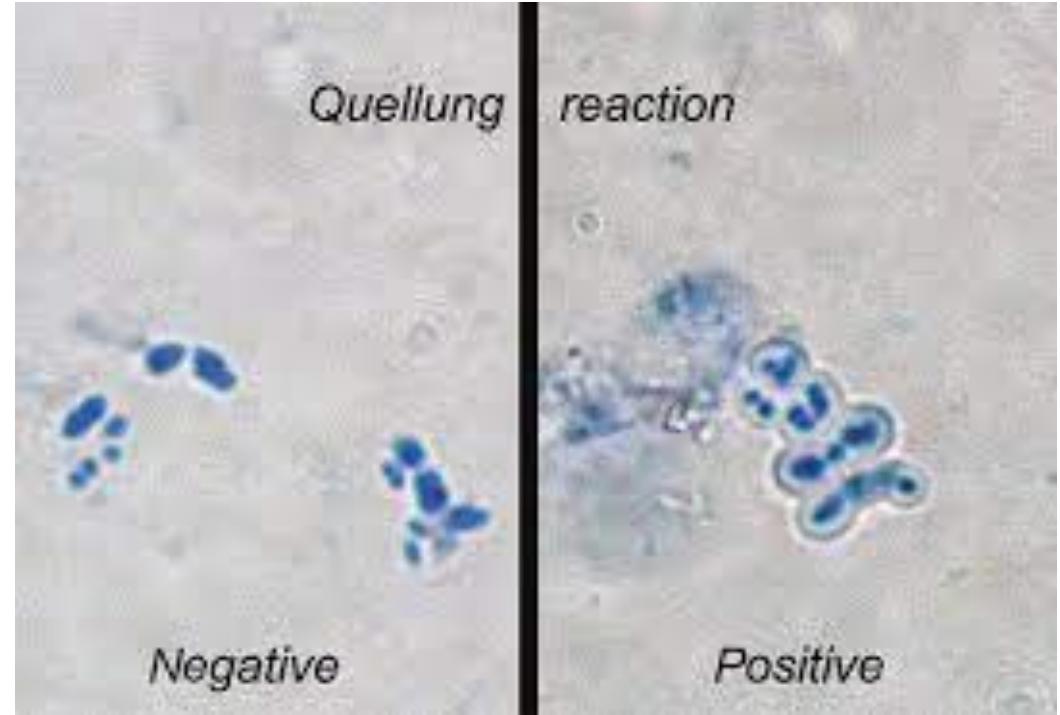
1. Cultura inviável 2. Poucos抗ígenos 3. Assintomáticos 4. resultados rápidos.

A. Reação de entumescimento capsular (Quellung)

Anticorpos capsulares (soro paciente)

S. pneumoniae, H. influenza tipo B, Neisseria meningitidis

90 tipo de sorotipos capsulares



B. Testes de aglutinação direta (detecta抗ígeno)

Antígeno adsorvido em microplacas ou lâmina

Anticorpos flagelares e capsulares para sorotipos de Salmonela. Anticorpo para antígeno de Shigella

C. Fixação do complemento-

Quantidade pequena de anticorpos

Vários tipos de bactérias patogências

D. Aglutinação em látex – esfera com ACP específicos

Capsulas de *H. influenzae*, *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*

E. Teste de Imunoenzimatico (ELISA) – Direto e indireto

IMUNODIAGNÓSTICO

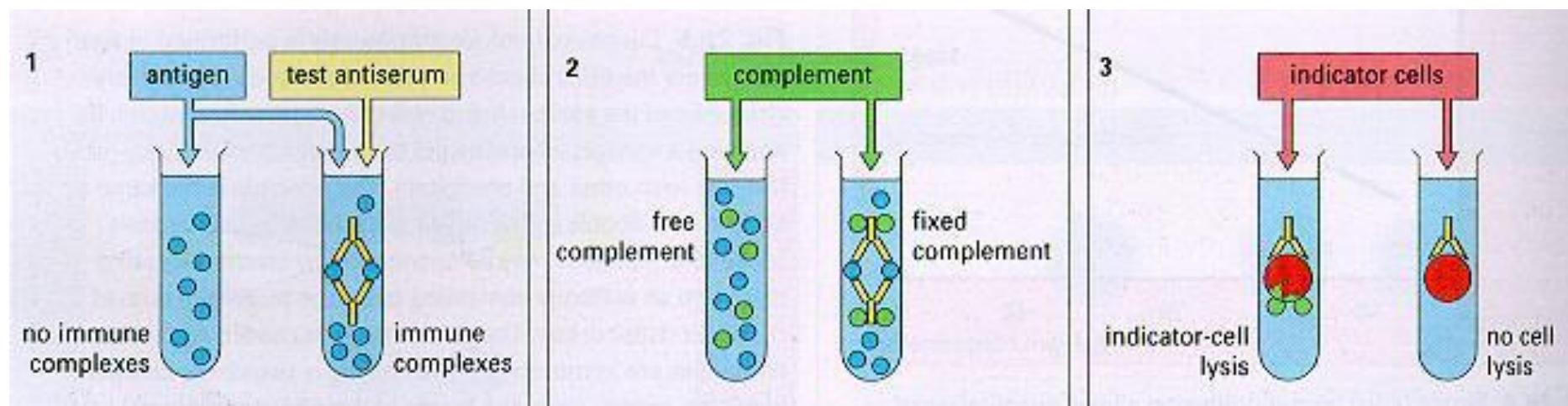
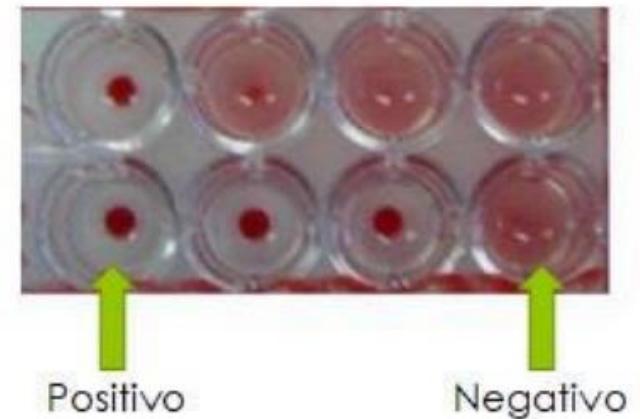
1. Cultura inviável 2. Poucos antígenos 3. Assintomáticos 4. resultados rápidos.

B. Testes de aglutinação direta (detecta antígeno)

Antígeno adsorvido em microplacas ou lâmina

Anticorpos flagelares e capsulares para sorotipos de Salmonela. Anticorpo para antígeno de Shigella

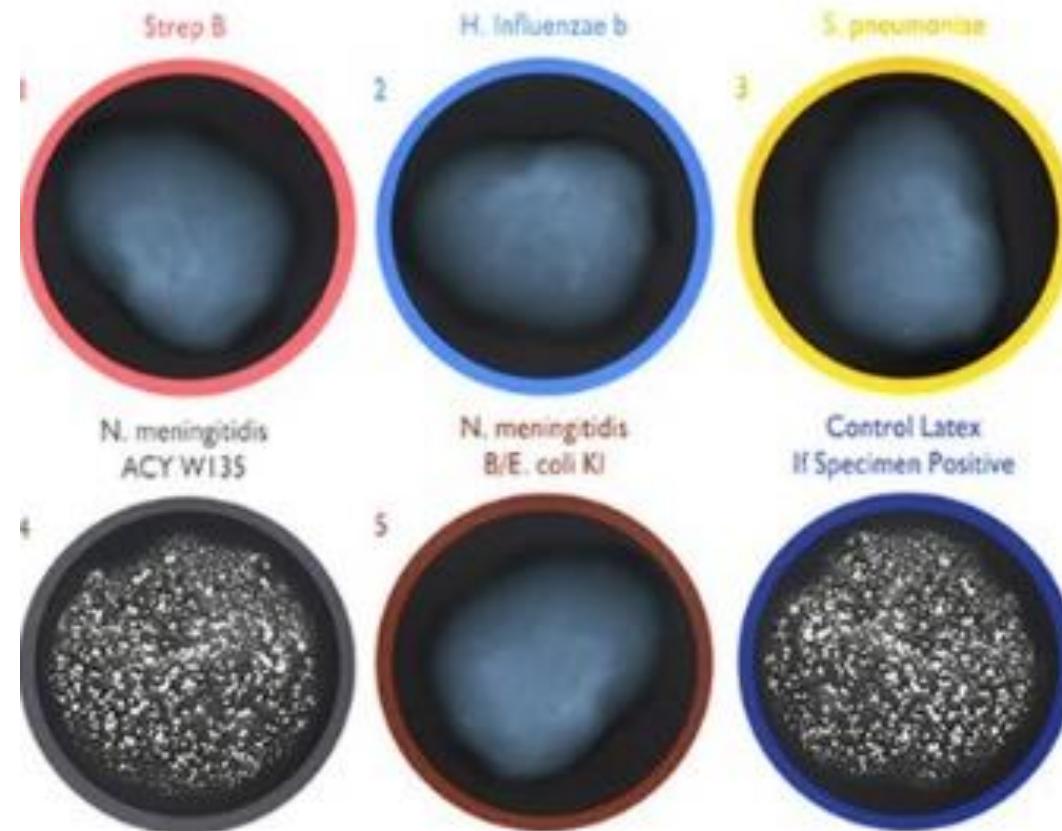
Princípio: + prot do complemento se ligar ao antígeno e não às hemácias



IMUNODIAGNÓSTICO

1.Cultura inviável 2. Poucos antígenos 3. Assintomáticos 4. resultados rápidos.

C. Aglutinação em látex – esfera com antígeno Estreptolisina
Detecção de Antiestreptolisina (látex + anticorpos)



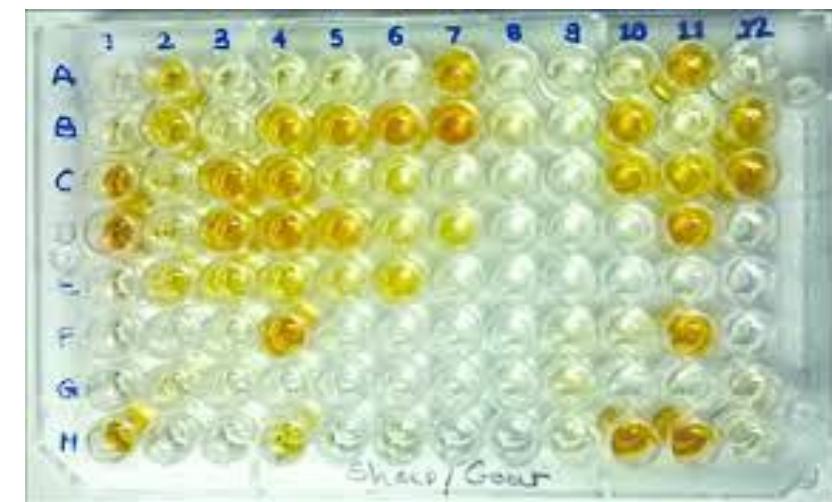
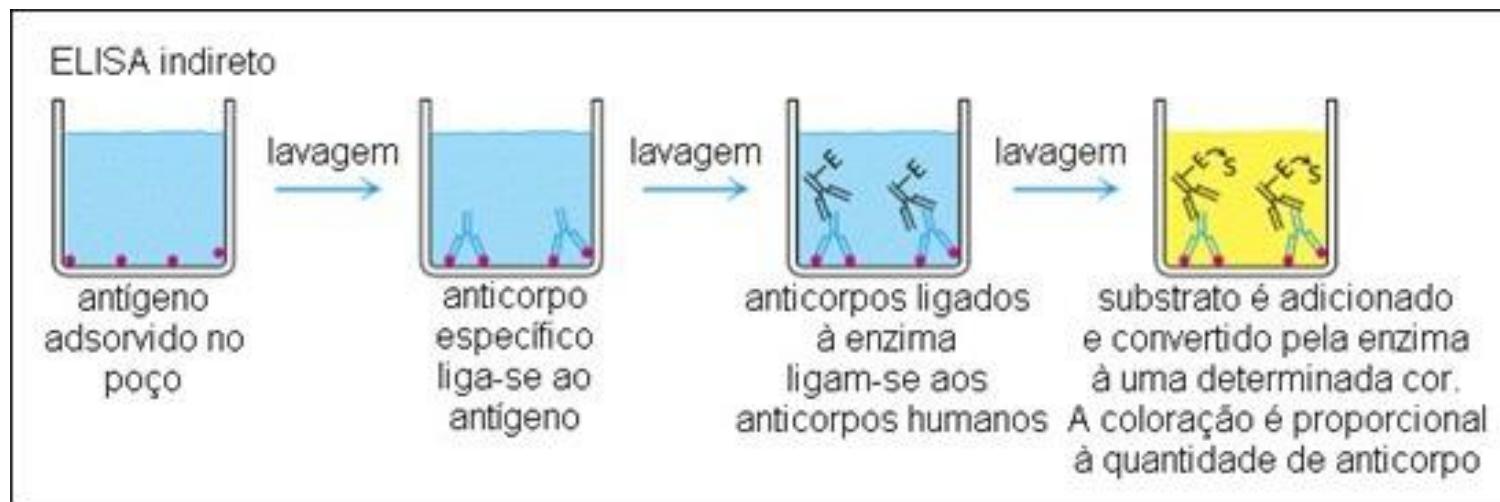
D. Teste de Imunoenzimatico (ELISA) – Direto e indireto

IMUNODIAGNÓSTICO

1.Cultura inviável 2. Poucos antígenos 3. Assintomáticos 4. resultados rápidos.

E. Teste Imunoenzimatico (ELISA) – Direto (antígeno) e indireto (anticorpos)

Fluxometria- intensidade da cor



DIAGNÓSTICO BIOMOLECULAR (DNA/RNA)

Altamente específico, Identificação de agentes, confirmação de cultura, diferenciação de espécies, microorganismos intracelulares ou em pouca quantidade em amostra clínica dos tecidos (riquétsias, clamídeas, M. leprae, M. tuberculosis)

Reação de Cadeia de Polimerase (PCR):

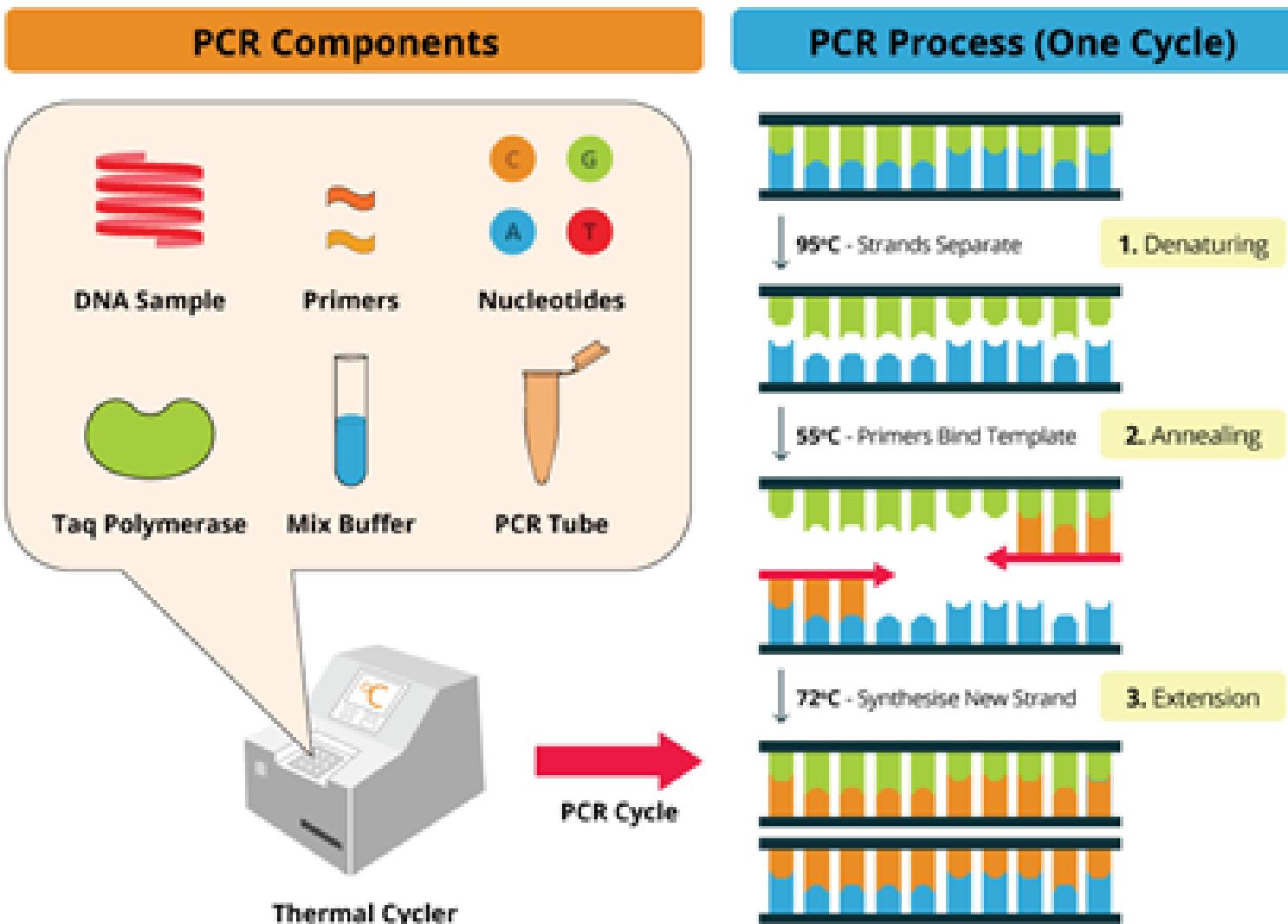
Termociclador

Amplificação da sequência de bases do DNA de interesse

Primers específicos

TABELA 1
Seqüências dos primers e parâmetros da PCR

Alvos	Seqüências dos primers	Produto Amplificado	Ciclos
IS6110	5'- CTC GTC CAG CGC CGC TTC GG - 3' 5'- CCT GCG AGC GTA GGC GTC GG - 3'	123 pb	94°C - 1 min 66°C - 1 min 35 72°C - 1 min
IS6110	5'- GTG CGG ATG GTC GCA GAG AT - 3' 5'- CTC GAT GCC CTC ACG GTT CA - 3'	541 pb	94°C - 1 min 65°C - 1 min 35 72°C - 1 min
38 kDa	Externos: 5'- ACC ACC GAG CGG TTC GCC TGA - 3' 5'- GAT CTG CGG GTC GTC CCA GGT - 3'	419 pb	94°C - 1 min 63°C - 1 min 35 72°C - 1 min
	Internos: 5'- TGA CGT TGG CGG AGA CCG - 3' 5'- ATG GTG CCC TGG TAC ATG - 3'	322 pb	94°C - 1 min 63°C - 1 min 35 72°C - 1 min
65 kDa	Externos: 5'- GAG ATC GAG CTG GAG GAT CC - 3' 5'- AGC TGC AGC CCA AAA GGT GTT - 3'	383 pb	94°C - 1 min 60°C - 1 min 35 72°C - 1 min
	Internos: 5'- CCA TCG ATC CGA GAC CCT GCT CAA GGG C - 3' 5'- TGC TCT AGA CTC CTC GAC GGT GAT GAC G - 3'	155 pb	94°C - 1 min 60°C - 1 min 35 72°C - 1 min
MPB64	5'- TCC GCT GCC AGT CGT CTT CC - 3' 5'- GTC CTC GCG AGT CTA GGC CA - 3'	240 pb	94°C - 1 min 50°C - 1 min 35 72°C - 1 min



DIAGNÓSTICO POR DNA E RNA

Altamente específico, Identificação de agentes, confirmação de cultura, diferenciação de espécies, microorganismos intracelulares ou em pouca quantidade em amostra clínica dos tecidos (riquétsias, clamídeas, M. leprae, M. tuberculosis)

Sondas de DNA e RNA:

Hibridização de sequência de bases complementares
Nucleotídios específicos marcados com átomos radioativos

DNA de interesse é hibridizado pela sonda marcada.

