

Morfologia microbiana

DENISE M. PALOMARI SPOLIDORIO
CRISTIANE DUQUE
HELVÉCIO CARDOSO CORRÊA PÓVOA

OBJETIVOS DE APRENDIZAGEM

- Diferenciar a estrutura celular geral dos procariotos e eucariotos
 - Diferenciar paredes celulares Gram-positivas e Gram-negativas
- Reconhecer as estruturas e a função da célula bacteriana
 - Caracterizar fungos
 - Caracterizar vírus

LEMBRETE

Os vírus não se enquadram em nenhum dos grupos determinados para os seres vivos, pois não são células verdadeiras e dependem do hospedeiro para a sobrevivência e proliferação da espécie. A classificação dos vírus está relacionada com sua composição química e morfológica ou com a presença do ácido nucleico.

Os seres vivos são classificados de acordo com a complexidade de sua estrutura celular, determinando dois grandes grupos: os procariotos e os eucariotos. A classificação mais atual, utilizada na maior parte dos trabalhos taxonômicos modernos, divide os seres vivos em três domínios:

- **Bacteria** ou **Eubacteria** – compreende todas as bactérias que infectam o homem;
- **Archaea** ou **Archaeobacteria** – bactérias metanogênicas, termófilas, acidófilas e halófilas;
- **Eukaryota** – reinos animal, vegetal, fungos e protozoários.

Os domínios *Bacteria* e *Archaea* contêm os seres vivos procariotos.

O domínio *Bacteria* compreende todos os procariotos patogênicos conhecidos, assim como espécies não patogênicas. A maior divisão desse grupo corresponde às Proteobactérias, que incluem bactérias que vivem no solo, na água ou no interior de plantas e animais. As cianobactérias são filogeneticamente associadas às bactérias Gram-positivas, pois ambos os grupos apresentam organismos cujo metabolismo gera oxigênio molecular. O grupo aquático *Planctomyces* apresenta haste típica para fixação a um local sólido, e o grupo espiroquetas apresenta morfologia característica de espiral e é causador de doenças como a sífilis. Duas linhagens de organismos que possuem pigmentos fotossintetizantes similares são as bactérias verdes sulfurosas e as bactérias verdes não sulfurosas. O gênero *Chlamydia* é composto por espécies patogênicas intracelulares obrigatórias, e o gênero *Deinococcus*, por espécies com resistência a altos níveis de radiação. Linhagens hipertermófilas resistem a temperaturas próximas à temperatura de ebulição. O domínio *Archaea* apresenta a maioria das espécies não dependentes de luz para obtenção de energia. Embora nem todas essas espécies sejam extremófilas, elas se distinguem por sua capacidade de

viver em ambientes muito salinos (halófilas), com pH muito baixo (acidófilas) e com temperaturas muito altas (hipertermófilas). Existem ainda as espécies metanogênicas, cujo metabolismo é único no planeta, pois sua energia é obtida a partir da produção do gás metano. Espécies como as do gênero *Thermoplasma* apresentam crescimento em temperaturas ligeiramente elevadas e valores de pH baixíssimos. Finalmente, há o domínio *Eukarya*, que apresenta uma grande diversidade de organismos. Fazem parte desse domínio os fototróficos, que utilizam a luz como fonte de energia (como as plantas e algas); os protozoários (flagelados, trichomonadas, diplomonadas e ciliados), que são organismos móveis, desprovidos de parede celular; e o grupo dos animais, ao qual os seres humanos pertencem. Nesse domínio, também são encontrados os fungos, que podem ser unicelulares (leveduras) ou filamentosos (bolores), e os líquens, que são espécies de fungos que se associam a um organismo fototrófico para obter energia, mas também beneficiam esse organismo, em relação de mutualismo.

A Figura 1.1 apresenta a classificação dos organismos vivos, mostrando as subdivisões dos reinos de acordo com os três domínios mencionados. Este capítulo irá abordar os princípios básicos de morfologia bacteriana, fúngica e virótica, uma vez que esses microrganismos são os de maior interesse para as doenças bucais humanas.

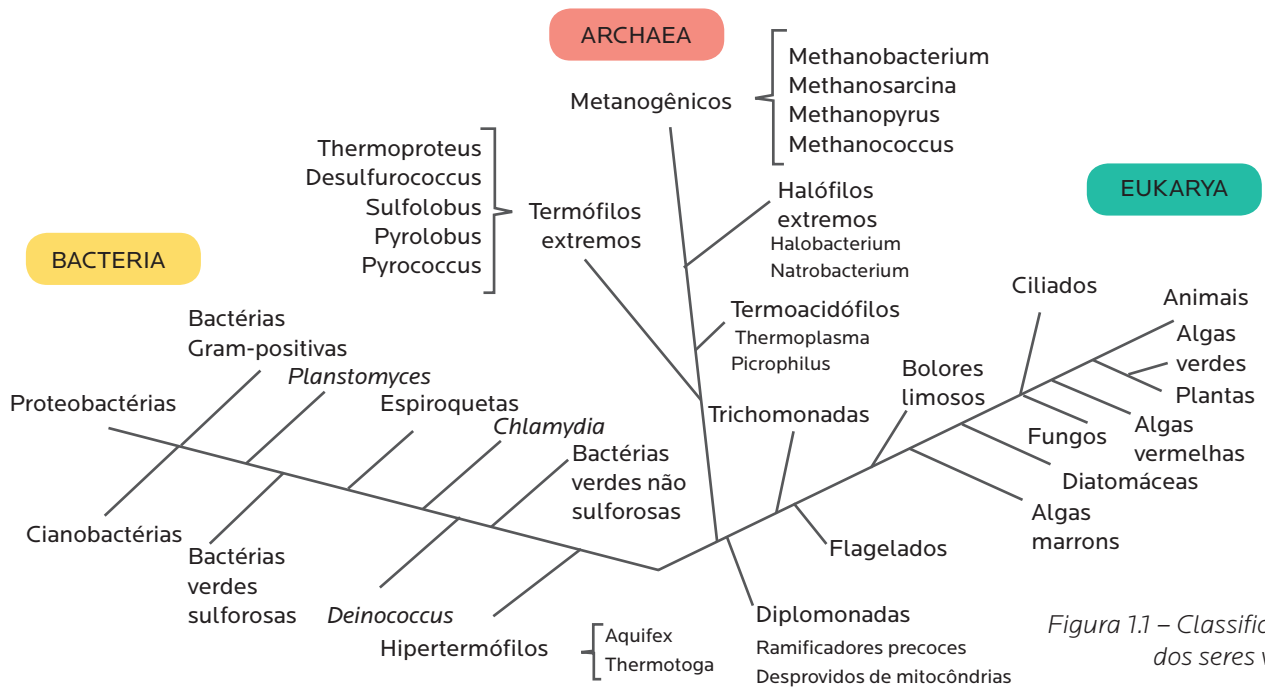


Figura 1.1 – Classificação dos seres vivos.

Fonte: Adaptada de Madigan e colaboradores.¹

PROCARIOTOS E EUCARIOTOS

As células são consideradas as unidades básicas de qualquer organismo, desde os microrganismos constituídos por uma única célula até as formas de vida com tecidos especializados e órgãos complexos.

Existem fundamentalmente **duas classes de células**, embora estas sejam quimicamente similares, pois ambas contêm ácidos nucleicos, proteínas, lipídeos e carboidratos. Os **procariotos** apresentam o material genético disperso pelo citoplasma e não separado por uma membrana, enquanto os **eucariotos** possuem um núcleo bem individualizado e delimitado pelo envoltório nuclear. Embora a complexidade nuclear seja utilizada para dar nome a essas duas classes de células, há outras diferenças importantes entre procariotos e eucariotos (Tab. 1.2).

Os procariotos possuem seu material genético (cromossomo circular) não envolvido por uma membrana e não possuem organelas revestidas por membrana. As bactérias são limitadas por uma parede celular que consiste geralmente de polissacarídeo complexo peptidoglicano, um polímero de açúcares mistos e aminoácidos (Fig. 1.2). Há duas formas de estruturas de paredes celulares: uma parede fina que cerca a membrana celular e que retém o corante cristal violeta (**bactéria Gram-positiva**) ou uma parede fina colocada entre duas membranas fosfolipídicas de camada dupla (**bactéria Gram-negativa**) (Fig. 1.3). Normalmente se dividem por fissão binária, em que seu DNA é duplicado e a célula se divide em duas (Tab. 1.3).

ATENÇÃO

A estrutura interna e a membrana plasmática são similares para todas as bactérias, mas a parede celular é mais complexa em bactérias Gram-negativas do que em Gram-positivas.

LEMBRETE

Apesar de possuírem uma estrutura relativamente simples, as células procarióticas são bioquimicamente versáteis e diversas; por exemplo, todas as principais atividades metabólicas são encontradas em bactérias, incluindo os três processos para obtenção de energia: glicólise, respiração e fotossíntese.

Gram-positivas

Possuem parede celular com uma única e espessa camada de peptidoglicanos e com presença de ácido teicoico, que funciona como antígeno de superfície, favorecendo a aderência de outras bactérias. A fixação com cristal violeta, cora a célula na cor púrpura ou azul, porque retém esse corante, mesmo sendo exposta a álcool.

Gram-negativas

Possuem parede celular com duas camadas: uma interna, mais delgada, constituída por peptidoglicanos e a outra externa, de origem lipídica, contendo LPS. No processo de coloração, o lipídeo é dissolvido pelo álcool e libera o primeiro corante, cristal violeta. Ao término da coloração, essas células são visualizadas com a tonalidade avermelhada do segundo corante, a safranina.

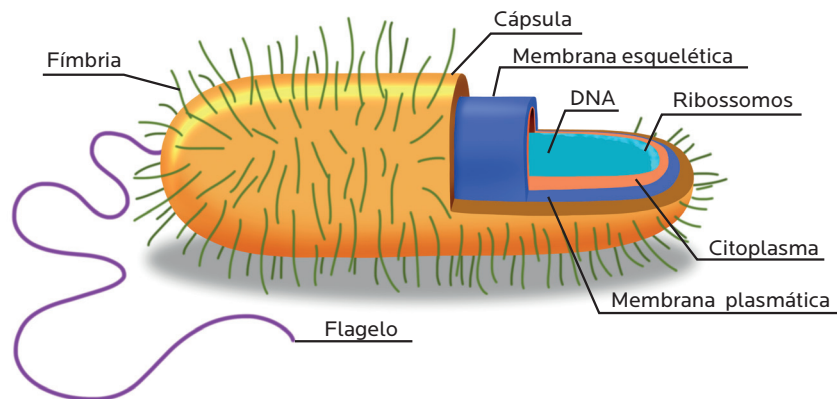


Figura 1.2 – Estruturas da célula procariota.

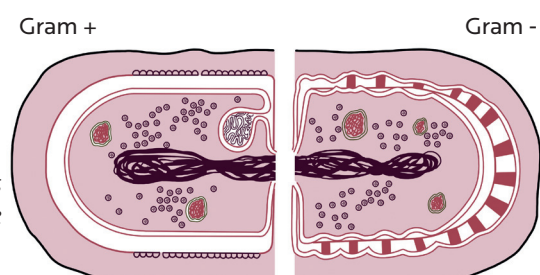


Figura 1.3 – Estruturas das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

TABELA 1.2 – Comparação entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas

CARACTERÍSTICAS	BACTÉRIA GRAM-POSITIVA	BACTÉRIA GRAM-NEGATIVA
ESTRUTURAIS		
Camada peptidoglicana	Espessa	Fina
Lipopolissacarídeo	Ausente	Presente
Ácido teicoico	Presente em várias espécies	Ausente
Cápsula, pilus, flagelo	Presente em algumas espécies	Presente em algumas espécies
FUNCIONAIS		
Permeabilidade a antibióticos	Bastante permeável	Impermeável
Esporulação	Presente em algumas espécies	Nenhuma
Produção de exotoxinas	Presente em algumas espécies	Presente em algumas espécies

Os **eucariotos** apresentam basicamente membrana plasmática, citoplasma e núcleo. Seu DNA é encontrado no núcleo celular, o qual é separado do citoplasma da célula por uma membrana nuclear e onde são encontrados os cromossomos (Fig. 1.4). Possuem diversas organelas revestidas por membrana, como mitocôndrias, lisossomos, retículo endoplasmático e aparelho de Golgi. A divisão celular geralmente ocorre por mitose; os cromossomos são duplicados, e um conjunto idêntico é distribuído para cada um dos dois núcleos. Posteriormente ocorre a divisão do citoplasma e das organelas, produzindo duas células idênticas.

RESUMINDO

Coloração de Gram
 Roxo = Gram-positiva
 Vermelho = Gram-negativa

Ácido teicoico

presente somente em bactérias Gram-positivas

LPS (endotoxina)

presente somente em bactérias Gram-negativas

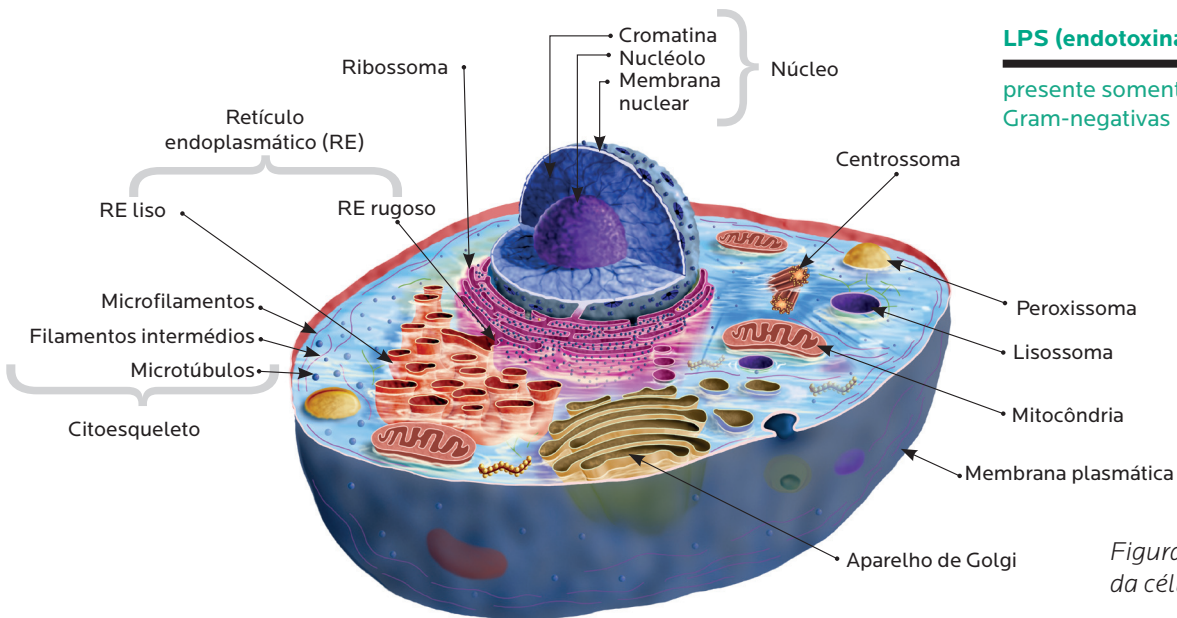


Figura 1.4 – Estruturas da célula eucariota.

TABELA 1.3 – Procarioto versus eucarioto

Características	Procarioto	Eucarioto
Diâmetro mais comum (aproximado em μm)	0,2 – 2,0	> 5
Parede celular	Estrutura complexa composta de proteínas, peptidoglicanos e lipídeos	Somente em fungos e plantas; composição difere da parede celular bacteriana
Membrana nuclear	Ausente	Presente
Genoma	Único, molécula de DNA circular	Múltiplo, molécula de DNA linear no núcleo
Organelas*	Ausente	Presente
Divisão celular	Fissão binária	Mitose e meiose

*Incluem mitocôndrias, aparelho de Golgi e retículo endoplasmático.

MORFOLOGIA BACTERIANA

Há diferentes tamanhos e formas para as bactérias. A maioria varia de 0,2 a 2,0 μm de diâmetro e de 2 a 8 μm de comprimento e apresenta algumas formas básicas, como esféricas, cilíndricas e espiraladas:

- células esféricas – denominadas **cocos**, são geralmente arredondadas;
- células cilíndricas ou em forma de bastão – chamadas de **bacilos**;
- células espiraladas ou helicoidais – chamadas de **espirilos**.

Quanto ao arranjo, pode-se observar que algumas espécies de bactérias estão frequentemente aderidas umas às outras, enquanto outras espécies possuem a forma espiralada e normalmente são únicas.

As bactérias que estão aderidas podem crescer em arranjos dependendo do plano de divisão celular; por exemplo, os **cocos** podem ser:

- diplococos (duas células ligadas);
- estreptococos (formando cadeia); ou
- estafilococos (divisão em três planos com agrupamento na forma de cacho de uva).

Os **bacilos** em sua maioria se apresentam isolados. Os diplobacilos aparecem em pares após a divisão, e os estreptobacilos, em cadeias.

As formas **espiraladas** possuem uma ou mais curvaturas, podendo ser denominadas:

- vibriões (forma de vírgula);
- espirilos (forma helicoidal, espiralada e rígida);
- espiroquetas (forma helicoidal e flexível).

O mecanismo de adesão bacteriana às superfícies ou a outras bactérias constitui o passo inicial da colonização e da patogênese nos quadros

LEMBRETE

Geralmente algumas estruturas são encontradas externamente à parede celular das bactérias. Dentre essas estruturas estão o glicocálice, os flagelos e as fímbrias (ou *pili*).

de diversas doenças, já que microrganismos que não são retidos rapidamente são eliminados.

ESTRUTURAS DA CÉLULA BACTERIANA

GLICOCÁLICE

O glicocálice bacteriano é um polímero viscoso e gelatinoso que circunda as células, composto por polissacarídeo, polipeptídeo ou ambos. É produzido dentro da célula e secretado para a superfície celular.

Se o glicocálice estiver organizado e firmemente aderido à parede celular, é descrito como **cápsula**; mas, se a substância não estiver organizada e estiver fracamente aderida à parede celular, é denominada **camada viscosa**.

Essa estrutura apresenta diversas funções, como proteção contra o dessecação e reservatório de alimentos. Dependendo da espécie bacteriana, a aderência e a virulência são as principais funções, e frequentemente protegem as bactérias da fagocitose pelas células do hospedeiro, aumentando a oportunidade de infecção por *Streptococcus pneumoniae*, por exemplo, que, quando capsulado, causa pneumonia.

A cavidade bucal é um ambiente único, com diferentes tipos de superfícies (dura, macia, natural e artificial) que compartilham o mesmo nicho ecológico. A fim de sobreviver nesse “sistema de crescimento aberto”, as bactérias precisam aderir tanto aos tecidos macios quanto aos duros.

Na superfície dental, o contato direto entre bactéria e substrato pode ser estabelecido, em nível molecular, por substâncias poliméricas extracelulares (SPEs) produzidas pelas bactérias. Essas substâncias não estão sujeitas ao mesmo tipo de repulsão que as bactérias; portanto, podem facilitar a adesão entre a bactéria e a superfície dentária por várias combinações de ligações químicas (eletrostática, covalente e de hidrogênio), interações dipolo (dipolo-dipolo, dipolo-induzido e íon-dipolo) e interações hidrofóbicas, favorecendo a formação de microcolônias. Consequentemente, o mesmo tipo de bactéria pode ter diferentes níveis de adesividade.

As SPEs produzidas pelos microrganismos desenvolvem um importante papel protegendo a célula da desidratação, já que podem reter água em uma quantidade várias vezes maior que a sua massa, além de se desidratarem lentamente. Em *Pseudomonas aeruginosa*, a presença de polímero ácido urânico densamente distribuído entre as microcolônias aumenta a capacidade de hidratação do biofilme bacteriano.

FÍMBRIAS OU PILI

As fímbrias (ou *pili*) são projeções proteicas que ajudam na aderência

LEMBRETE

Para que ocorra colonização da cavidade bucal, é primordial a aderência bacteriana aos dentes e/ou às superfícies mucosas. Assim, microrganismos que não possuam mecanismos de adesão serão facilmente removidos pelos fluidos bucais.

Fímbrias

Pequenas projeções proteicas (proteína classicamente chamada de pilina) não relacionadas com motilidade e não visíveis em microscopia óptica, somente em microscopia eletrônica.

da bactéria às superfícies, porque facilitam o contato entre superfícies e células; servem de ponte entre a célula e o substrato de adesão, anulam a repulsão eletrostática e podem variar em tamanho e rigidez, chegando a ter várias vezes o tamanho da célula.

Possuem importante função em termos de adesão – não uma adesão inespecífica, mas uma **adesão a receptores**. São conhecidos os chamados *F pili* ou *pili* de fertilidade (*pili* sexuais), que podem transferir material genético, como plasmídeo, para outra célula que não o apresenta.

A fímbria é composta de subunidades de proteína encontradas em uma variedade de superfícies de células (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, dentre outras). O papel da fímbria tem sido bastante estudado na adesão de células patogênicas. A interação entre bactéria e hospedeiro depende de uma proteína existente no corpo ou na ponta da fímbria. Esta se liga a receptores específicos no hospedeiro e ativa os genes hospedeiro-célula com a transdução da sinalização, levando ao aumento da adesão ou invasão. Essa estrutura, geralmente alongada para fora do glicocálice, pode auxiliar como uma “ponte” que estabelece contato entre bactérias e a superfície dental.

Flagelos

São formados por um complexo de proteínas. As subunidades de proteínas expostas no ponto de inserção do flagelo com a membrana plasmática e a porção filamentosa podem ser, idealmente, posicionadas para mediar a adesão às superfícies animadas e inanimadas.

FLAGELOS

Os flagelos são órgãos responsáveis pela mobilidade da célula microbiana. São de natureza proteica (flagelina), muito maiores que os cílios, e têm a capacidade de se mover por conta própria. São projeções para o exterior da célula e estão ancorados na membrana citoplasmática. Precisam de muita energia, tendo um aparelho energético próprio.

MORFOLOGIA DOS FUNGOS

Fungos

Existem três grupos principais de fungos:

- bolores;
- cogumelos;
- leveduras.

Os fungos são espécies uni ou multicelulares identificadas por sua aparência física e por seu habitat.

Morfologicamente, os fungos apresentam paredes celulares compostas principalmente de **quitina**, um polímero de N-acetilglicosamina derivado da glicose. Essas paredes são compostas de 80 a 90% de polissacarídeos com proteínas, lipídeos, polifosfatos e íons orgânicos formando uma matriz. São conhecidos por sua baixa exigência nutricional, o que facilita sua sobrevivência em ambientes diversos e a contaminação de produtos de consumo humano.



Os **bolores** são chamados de fungos filamentosos e estão presentes amplamente na natureza, principalmente em alimentos velhos.

O filamento dos bolores recebe o nome de hifa. As hifas podem ser septadas (diferentes unidades celulares uninucleadas) ou cenocíticas (tubo nucleado contendo citoplasma). Elas crescem por alongamento das extremidades, produzindo novos filamentos quando outros são perdidos. A porção da hifa que contém nutrientes é denominada hifa vegetativa; a porção relacionada com a reprodução é a hifa reprodutiva ou aérea.

As hifas crescem em conjunto formando ramificações que originarão uma massa compacta denominada micélio. A partir do micélio, podem surgir estruturas aéreas chamadas de conídios, que correspondem aos esporos assexuados, frequentemente pigmentados, dando sua coloração ao micélio quando este é formado (amarela, preta, marrom, azul esverdeada, vermelha).



Os **cogumelos** são denominados basidiomicetos filamentosos que formam os corpos de frutificação, parte comestível do cogumelo. Geralmente o cogumelo vive como micélio, crescendo em troncos, em folhas ou no solo. Em situações desfavoráveis, os corpos de frutificação se desenvolvem e formam uma estrutura em forma de chapéu denominada píleo. No interior do corpo de frutificação existem as lamelas, nas quais se formam os basidiósporos, esporos sexuais que são dispersos na natureza e promovem a disseminação da espécie.



As **leveduras** ou fungos unicelulares, na maioria das vezes, são denominadas ascomicetos. As células da levedura são esféricas, ovais ou cilíndricas, não filamentosas, e a divisão celular ocorre por brotamento. As leveduras apresentam dimensões muito maiores que as bactérias e evidentemente organelas intracelulares, como o núcleo. Também produzem esporos sexuais denominados ascósporos.

Existem alguns fungos que são denominados imperfeitos, classificados como deuteromicetos. As espécies mais conhecidas são *Penicillium*, *Aspergillus* e *Candida*. Essas espécies não apresentam esporos sexuais; reproduzem-se por brotamento e podem produzir hifas (Figura 1.5).

Algumas espécies de leveduras, como a *Candida*, podem formar pseudo-hifas, brotos que não se separaram uns dos outros, formando uma cadeia de células. Além das pseudo-hifas, *Candida* também pode produzir hifas que facilitam sua penetração nos tecidos mais profundos, tornando-a patogênica, levando ao desenvolvimento de infecções orais, vaginais, pulmonares e até sistêmicas. *Candida* spp. produz esporos assexuais denominados blastoconídeos, que consistem em um broto originário de uma célula parenteral, ou ainda os clamidósporos, formados do alongamento e alargamento no interior de um segmento de hifa.

LEMBRETE

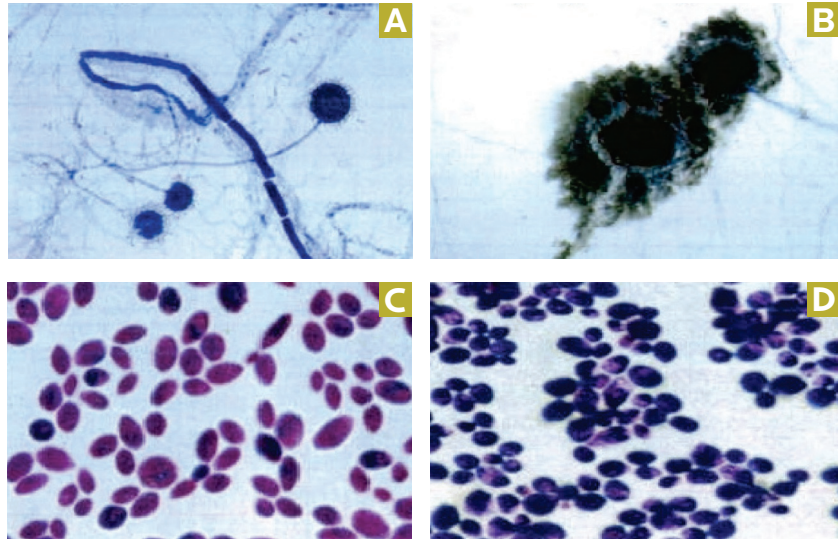
Alguns bolores possuem esporos sexuais resultantes da fusão dos gametas unicelulares ou de hifas especializadas, responsáveis pela propagação da espécie. Esses esporos são resistentes à desidratação, ao calor, ao congelamento e até a alguns agentes químicos.

Fonte: Adaptada de Madigan e colaboradores.¹

TABELA 1.4 – Classificação e principais características dos fungos

Grupo	Hifas	Tipo de esporo sexual	Representantes do grupo	Habitat
Ascomicetos	Septadas	Ascósporo	<i>Neurospora</i> <i>Saccharomyces</i> <i>Morchella</i>	Solo, matéria vegetal em decomposição
Basidiomicetos	Septadas	Basidiósporo	<i>Amanita</i> (cogumelo venenoso) <i>Agaricus</i> (cogumelo comestível)	Solo, matéria vegetal em decomposição
Zigomicetos	Cenocíticas	Zigósporo	<i>Rhizopus</i> (bolor do pão)	Solo, matéria vegetal em decomposição
Oomicetos	Cenocíticas	Oósporo	<i>Allomyces</i>	Água
Deuteromicetos	Septadas	Nenhum conhecido	<i>Penicillium</i> <i>Aspergillus</i> <i>Candida</i>	Solo, matéria vegetal e animal em decomposição

Figura 1.5 – Fotomicrografia de algumas espécies bem conhecidas de fungos. (A) *Rhizopus microsporum* – coloração com azul de algodão. Hifas largas e esporos. (B) *Aspergillus niger* – coloração com azul de algodão. Hifas finas septadas, conidióforos com vesículas recobertas por conídios negros. (C) *Saccharomyces cerevisiae* – coloração de Gram. Células leveduriformes coradas em roxo. Blastoconídios grandes e esféricos. Às vezes se observam hifas. (D) *Candida albicans* – coloração de Gram. Células leveduriformes coradas pelo Gram.



CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS VÍRUS

Vírus

Partículas genéticas dotadas de capacidade infecciosa e relacionadas a um número significativo de doenças envolvendo todos os tipos de organismos celulares, como seres humanos, plantas, animais e até microrganismos como as bactérias.

Os vírus são pequenos e de estrutura muito simples, podendo replicar-se independentemente do cromossoma de uma célula, mas não independentemente da própria célula hospedeira. Não possuem ribossomos para síntese proteica ou locais para produção de energia; conseqüentemente, não realizam as funções de respiração ou biossintéticas.

Seu genoma é de tamanho limitado, codificando principalmente as informações que não são encontradas nas células hospedeiras. Uma vez no interior da célula hospedeira, o vírus redireciona o maquinário genético preexistente dessa célula e suas funções metabólicas para a síntese de componentes estruturais necessários para a montagem de novos virions, em um fenômeno denominado **replicação viral**.

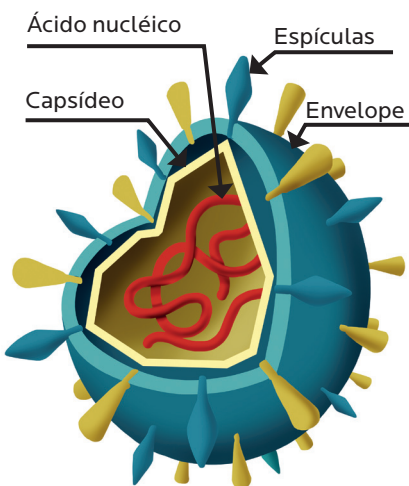


Figura 1.6 – Estrutura de vírus envelopado.

ESTRUTURA VIRAL

A forma extracelular de uma partícula viral ou virion varia de tamanho entre 10 e 300 nanômetros (nm) de diâmetro. Sua estrutura é formada basicamente por um genoma composto por ácido nucleico, como ácido desoxirribonucleico (DNA) ou ácido ribonucleico (RNA) – nunca os dois –, envolvido por um capsídeo, o qual é composto por várias unidades proteicas menores denominadas capsômeros. Ocasionalmente, dependendo do vírus, é envolto ainda por outros componentes macromoleculares, como lipídeos e polissacarídeos, formando um envelope protetor (Fig. 1.6).

Os vírus também são geneticamente simples, contendo de 3 a 77 genes onde armazenam informações transcritas durante sua expressão. Algumas moléculas de ácido nucleico são lineares; outras

são circulares, podendo ser uma dupla fita de DNA ou uma fita simples de RNA, mas poucos têm uma fita simples de DNA ou duplo filamento de RNA.

Os capsômeros estão dispostos em dois padrões de simetria estrutural do capsídeo: icosaédrico (20 faces triangulares e 12 vértices) e helicoidal. Este último invariavelmente possui genoma de RNA ligado às subunidades proteicas do capsídeo, de modo regular e periódico, em contraste com as interações frouxas observadas no padrão icosaédrico.

Alguns retrovírus, como o vírus da imunodeficiência adquirida (HIV), possuem simetria mista: icosaédrica no capsídeo e helicoidal no cerne de ácido nucleico. Outros, como o vírus da varíola, possuem padrões estruturais ainda mais complexos. Para estes, as estruturas são uma combinação de uma porção helicoidal chamada cauda, presa a uma porção poliédrica chamada cabeça. Bacteriófagos são complexos, podendo possuir estruturas além da cabeça e da cauda, como bainha, placa basal, fixadores e fibras de cauda que auxiliam o virion a se fixar na superfície da bactéria hospedeira (Fig. 1.7).

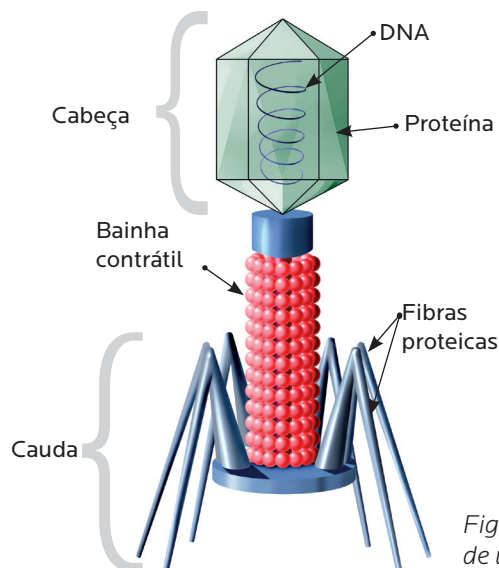


Figura 1.7 – Estrutura de um bacteriófago.

O envoltório ou envelope que circunda o núcleo capsídeo de alguns vírus é composto por proteínas específicas do vírus, além de lipídeos e carboidratos derivados das membranas da própria célula hospedeira. Em alguns casos, as proteínas codificadas pelo genoma viral incluem uma proteína de matriz (proteína M) que reveste a superfície interna do envelope. Algumas glicoproteínas podem projetar-se na estrutura externa do envoltório, sendo conhecidas como espículas. Vírus envelopados são sensíveis a solventes não polares, como o éter, que destrói seu envoltório e limita sua habilidade de infecção.