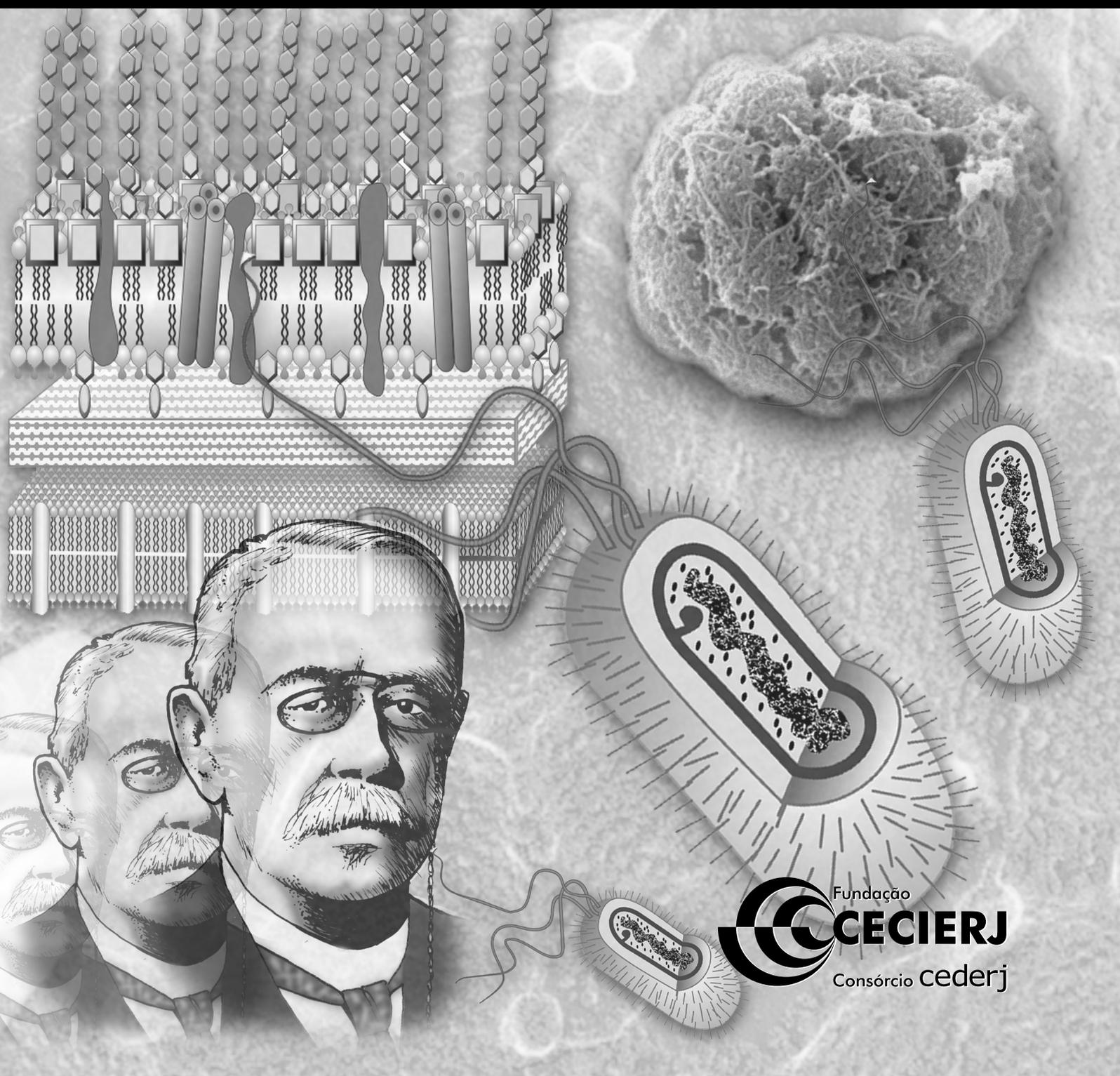


Maria Isabel Madeira Liberto  
Maulori Curié Cabral  
Ulysses Garcia Casado Lins

Microbiologia







Fundação

**CECIERJ**

Consórcio **cederj**

Centro de Educação Superior a Distância do Estado do Rio de Janeiro

## Microbiologia

Volume 2 - Módulo 1

Maria Isabel Madeira Liberto  
Maulori Curié Cabral  
Ulysses Garcia Casado Lins



SECRETARIA DE  
CIÊNCIA E TECNOLOGIA



Ministério  
da Educação



Apoio:



# Fundação Cecierj / Consórcio Cederj

Rua Visconde de Niterói, 1364 – Mangueira – Rio de Janeiro, RJ – CEP 20943-001

Tel.: (21) 2334-1569 Fax: (21) 2568-0725

## Presidente

Masako Oya Masuda

## Vice-presidente

Mirian Crapez

## Coordenação do Curso de Biologia

UENF - Milton Kanashiro

UFRJ - Ricardo Iglesias Rios

UERJ - Celly Saba

## Material Didático

### ELABORAÇÃO DE CONTEÚDO

Maria Isabel Madeira Liberto

Maulori Curié Cabral

Ulysses Garcia Casado Lins

### COORDENAÇÃO DE DESENVOLVIMENTO INSTRUCIONAL

Cristine Costa Barreto

### DESENVOLVIMENTO INSTRUCIONAL E REVISÃO

Luciana Messeder

Marta Abdala

Roberto Paes

### COORDENAÇÃO DE LINGUAGEM

Cyana Leahy-Dios

Maria Angélica Alves

### COORDENAÇÃO DE AVALIAÇÃO DO MATERIAL DIDÁTICO

Débora Barreiros

### AVALIAÇÃO DO MATERIAL DIDÁTICO

Ana Paula Abreu Fialho

Aroaldo Veneu

## Departamento de Produção

### EDITORA

Tereza Queiroz

### COPIDESQUE

Cristina Maria Freixinho

### REVISÃO TIPOGRÁFICA

Elaine Bayma

Marcus Knupp

Patrícia Paula

### COORDENAÇÃO DE PRODUÇÃO

Jorge Moura

### PROGRAMAÇÃO VISUAL

Sanny Reis

### ILUSTRAÇÃO

Morvan Neto

### CAPA

Morvan Neto

### PRODUÇÃO GRÁFICA

Oséias Ferraz

Patricia Seabra

Copyright © 2005, Fundação Cecierj / Consórcio Cederj

Nenhuma parte deste material poderá ser reproduzida, transmitida e gravada, por qualquer meio eletrônico, mecânico, por fotocópia e outros, sem a prévia autorização, por escrito, da Fundação.

L695m

Liberto, Maria Isabel Madeira.

Microbiologia. v. 2 / Maria Isabel Madeira Liberto; Maulori Curié Cabral; Ulysses Garcia Casado Lins. - Rio de Janeiro: Fundação CECIERJ, 2010.

218p.; 19 x 26,5 cm.

ISBN: 85-7648-256-8

1. Microbiologia industrial. 2. Vírus e viroses. 3. Células. 4. Epidemiologia. I. Cabral, Maulori Curié. II. Lins, Ulysses Garcia Casado. II. Título.

CDD: 579

2010/1

Referências Bibliográficas e catalogação na fonte, de acordo com as normas da ABNT.

# Governo do Estado do Rio de Janeiro

**Governador**  
Sérgio Cabral Filho

**Secretário de Estado de Ciência e Tecnologia**  
Alexandre Cardoso

## Universidades Consorciadas

**UENF - UNIVERSIDADE ESTADUAL DO  
NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**  
Reitor: Almy Junior Cordeiro de Carvalho

**UERJ - UNIVERSIDADE DO ESTADO DO  
RIO DE JANEIRO**  
Reitor: Ricardo Vieiralves

**UFF - UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE**  
Reitor: Roberto de Souza Salles

**UFRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
RIO DE JANEIRO**  
Reitor: Aloísio Teixeira

**UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL  
DO RIO DE JANEIRO**  
Reitor: Ricardo Motta Miranda

**UNIRIO - UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO  
DO RIO DE JANEIRO**  
Reitora: Malvina Tania Tuttman



### SUMÁRIO

<b>Aula 11</b>	– Micróbios na natureza – Aula prática _____	<b>7</b>
	<i>Maria Isabel Madeira Liberto / Maulori Curié Cabral / Ulysses Garcia Casado Lins</i>	
<b>Aula 12</b>	– Micróbios eucarióticos _____	<b>21</b>
	<i>Maria Isabel Madeira Liberto / Maulori Curié Cabral / Ulysses Garcia Casado Lins</i>	
<b>Aula 13</b>	– Microbiologia industrial _____	<b>45</b>
	<i>Maria Isabel Madeira Liberto / Maulori Curié Cabral / Ulysses Garcia Casado Lins</i>	
<b>Aula 14</b>	– Micróbios primitivos de ambientes hipersalínico – Aula prática ____	<b>71</b>
	<i>Maria Isabel Madeira Liberto / Maulori Curié Cabral / Ulysses Garcia Casado Lins</i>	
<b>Aula 15</b>	– A descoberta dos vírus e as viroses em animais _____	<b>85</b>
	<i>Maria Isabel Madeira Liberto / Maulori Curié Cabral / Ulysses Garcia Casado Lins</i>	
<b>Aula 16</b>	– Vírus e viroses de plantas e de células procarióticas _____	<b>113</b>
	<i>Maria Isabel Madeira Liberto / Maulori Curié Cabral / Ulysses Garcia Casado Lins</i>	
<b>Aula 17</b>	– Cura espontânea nas viroses de animais _____	<b>149</b>
	<i>Maria Isabel Madeira Liberto / Maulori Curié Cabral / Ulysses Garcia Casado Lins</i>	
<b>Aula 18</b>	– Epidemiologia: prevenção e controle das infecções _____	<b>179</b>
	<i>Maria Isabel Madeira Liberto / Maulori Curié Cabral / Ulysses Garcia Casado Lins</i>	
<b>Referências</b>	_____	<b>213</b>



# AULA 11

## Micróbios na natureza – Aula prática

### Meta da aula

Demonstrar a presença de micróbios na Natureza.

## objetivos

Esperamos que, após o estudo do conteúdo desta aula, você seja capaz de:

- detectar a presença de micróbios no ar e associados ao corpo de animais (seres humanos e peixes);
- discutir a importância das bactérias bioluminescentes na cadeia alimentar marinha.

### Pré-requisitos

Para uma boa compreensão desta aula, você deverá recordar os conteúdos sobre técnicas assépticas e coloração de Gram (Aula 5); esterilização de meios de cultura (Aula 6); ação de desinfetantes sobre os micróbios (Aula 7), composição de meios de cultivo bacteriano (Aula 8) e meios seletivos para crescimento bacteriano (Aula 9).

## INTRODUÇÃO

Os micróbios são os seres que podem ser encontrados em todos os ambientes da biosfera. Você já deve ter tomado consciência dessa premissa à medida que vem avançando no conteúdo desta disciplina. Nesta aula prática, você vai executar procedimentos para capturar e cultivar micróbios que estão presentes no ar que você respira e associados à superfície da pele e das mucosas dos animais. Os da pele serão recolhidos da sua mão e os das mucosas a partir das guelras ou da cloaca de um peixe marinho fresco.

Para cultivar micróbios você precisa oferecer-lhes nutrientes e condições ambientais favoráveis para que eles se propaguem. Mas, se eles estão em todos os lugares, que artifício deve ser feito para que os micróbios que você pretende capturar não necessitem competir com aqueles que já estão no local que você escolheu para cultivá-los? Muito simples. Todo material a ser usado deve ser esterilizado antes. A esterilização dos utensílios e dos meios de cultura pode ser efetuada por autoclavagem (como você viu na Aula 6). Lembre-se de que certos componentes nutritivos, por serem termolábeis, devem ser esterilizados por filtração ou exposição à radiação gama e depois adicionados, de maneira asséptica, ao restante do meio de cultura que já foi autoclavado.

Recordando a diversidade metabólica dos micróbios você deve levar em conta que, nem sempre, os componentes nutricionais incluídos nos meios são passíveis de atender às exigências nutritivas de todos os micróbios. Por isso, é necessário preparar meios de cultura de diferentes composições. Uns podem ser adicionados de ingredientes que inibam o crescimento de alguns tipos, mas favoreçam outros. Este tipo de meio de cultura é classificado como seletivo para o tipo ou tipos microbianos que são favorecidos. Os meios de cultura seletivos podem ainda servir para diferenciar dois grupos bacterianos. Para isto, são adicionados de mais um ingrediente químico (lactose, por exemplo) que pode ser metabolizado ou não pelas espécies bacterianas que suportam a presença do agente seletivo. Este tipo de meio de cultura é empregado largamente nos trabalhos de classificação bacteriana (apresentados na Aula 9) e é conhecido como sendo seletivo-indicador.

## MATERIAIS NECESSÁRIOS PARA A EXECUÇÃO DA PRÁTICA

Para realizar esta aula prática, que é dividida em três partes, você vai precisar dos seguintes materiais:

- uma alça metálica para trabalhos bacteriológicos;
- *swabs* esterilizados por raios gama;

- toalhas de papel;
- um frasco com 200 mL de desinfetante (formol/detergente/azul de metileno);
- uma cultura de bactéria marinha bioluminescente, em tubo;
- duas placas de Petri com meio de cultura (Tryptose-soja-agar-TSA ou de Agar nutritivo-AN) para demonstração de micróbios no ambiente e associados às mãos;
- uma ou duas placas de Petri com meio de cultura (Agar Nutritivo Salgado—ANS) para cultivo de bactérias marinhas;
- um peixe marinho fresco;
- um bico de Bunsen ou uma lamparina a álcool;
- uma proveta ou uma pipeta com bulbo, para medir 15 mL do desinfetante;
- um aposento ou local escuro ou então um pano preto grosso.

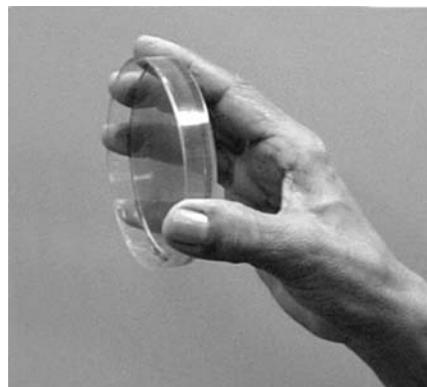
## EXECUÇÃO

Lembre-se de que, para garantir a plenitude dos resultados, o material deve ser manipulado com técnicas assépticas, conforme você aprendeu na Aula 5. Por isso, recomendamos a utilização de lamparina a álcool ou bico de Bunsen para flambar as alças e criar um campo de trabalho esterilizado, em volta da chama.

### 1ª Parte: Demonstração de micróbios no ambiente

Vamos ver quem captura mais micróbios? Para executar esta prática você vai utilizar uma placa de Petri contendo meio de cultura sólido, constituído de agar-agar (15g/L), hidrolisado enzimático de proteínas bovinas (15g/L), hidrolisado ácido de proteína de soja (5g/L) e cloreto de sódio (5g/L), disponível comercialmente sob a designação de TSA (triptona-soja-agar). Para observar os resultados, você deverá levar as placas embrulhadas para casa e guardá-las em cima da geladeira.

Cada estudante deve escolher um local e abrir a placa, por cinco minutos, para capturar os micróbios presentes no ar. Esperar os micróbios caírem na superfície do meio de cultura da placa aberta é uma maneira passiva de participar desta aula. Você pode aumentar a eficiência deste processo correndo com a placa aberta para esbarrar com as células microbianas que estão no ar.



**Figura 11.1:** Uma maneira de segurar a placa com TSA para capturar micróbios do ar.

Outra forma é você procurar um local onde exista um raio de luz que lhe permita observar as partículas que estão em suspensão. Assim você os capturará facilmente. Lembre-se de que o que você vê não são os micróbios, mas sim a sombra deles. Para você associar esse fenômeno a algo que lhe é bem familiar, observe a **Figura 11.2** onde é mostrada a imagem de um ser humano que, ao servir de anteparo aos raios solares forma uma sombra. Você não vê a pessoa, mas percebe que ela está lá.



**Figura 11.2:** Sombras ampliadas, ao entardecer em Fortaleza.

Depois disso, as placas devem ser mantidas fechadas, com a tampa para baixo (lembra da Aula 5?), em estufa a 37°C ou à temperatura ambiente. Você deve tomar providências para evitar que formigas ou outros insetos penetrem nas placas e, para isso, você pode embrulhá-las com papel ou colocá-las dentro de um saco plástico, como aquele usado para congelamento de alimentos. Observe diariamente as placas para verificar a formação de colônias, resultantes da multiplicação dos micróbios que foram capturados quando a superfície do meio de cultura foi exposta ao ambiente. Quem conseguir a placa com maior número de colônias, após 48 horas, será considerado o(a) vencedor(a). A classificação pode ser também em função daquele(a) que conseguir a maior diversidade de tipos de colônias. Vocês decidem!

Para saber o tipo morfológico dos micróbios que formam as colônias na placa, você pode preparar uma lâmina de microscopia e corá-la pelo método de Gram. Para pôr em prática essa sua iniciativa, você deve desgordurar a lâmina e, depois que estiver limpa e seca, usar a alça metálica para colocar uma gota d'água no local da superfície da lâmina onde fará o esfregaço. Depois flambe a alça, remova um pouco da colônia e espalhe junto com a gota d'água colocada na lâmina. Espere

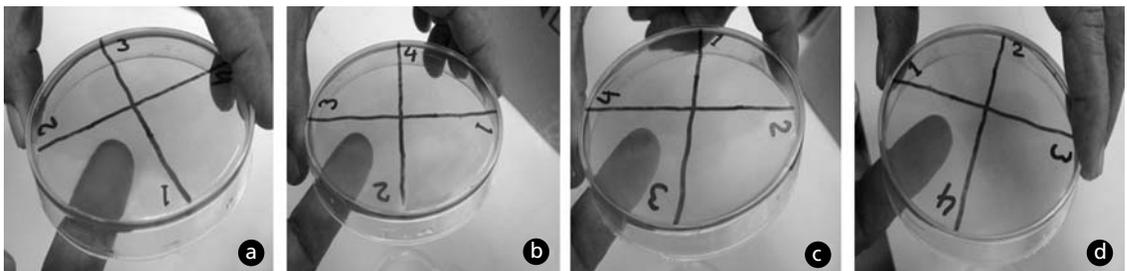
o esfregaço secar e promova a fixação expondo a lâmina ao calor da chama. Prossiga conforme você aprendeu na Aula 5. A coloração de Gram é uma técnica rápida e muito elucidativa. Utilizando-a você terá a oportunidade de visualizar os tipos microbianos que estavam no ar e que encontraram condições satisfatórias para crescer no meio de cultura da sua placa de Petri.

Ao terminar esta etapa do experimento, adicione 15 mL do desinfetante na placa e deixe em repouso por 24 horas, para depois descartá-la. Você deve estar se perguntando, por quê? É fácil: como você viu na Aula 7, o desinfetante agirá eliminando os micróbios, mas para isso é necessário o fator tempo. Após este procedimento, as placas poderão ser descartadas no lixo, sem perigo de contaminação microbiana para o ambiente.

## 2ª Parte: Demonstração de micróbios associados ao corpo humano

Para realizar esta parte da aula, você deve utilizar uma placa com meio TSA. Inicialmente, você deve usar uma caneta que escreva em plástico e fazer uma marcação, no fundo da placa, dividindo-a em quatro quadrantes, identificando-os 1, 2, 3, 4. A seguir, realize as seguintes etapas:

a) com a placa voltada para baixo, “carimbe” a impressão digital do seu dedo indicador no quadrante 1, conforme você pode ver na **Figura 11.3.a**. **ATENÇÃO:** a consistência da camada de meio de cultura é bem frágil, por isso, toque-a delicadamente;



**Figura 11.3:** “Carimbando” a digital na placa.

b) em seguida, lave bem as mãos com sabão e, depois de secá-las ao ar, “carimbe” a mesma impressão digital no quadrante 2 (Figura 11.3.b);

c) faça nova lavagem das mãos e, como no item ‘b’, “carimbe” agora o quadrante 3 (Figura 11.3.c);

d) repita o item ‘c’, “carimbando” agora, o quadrante 4 (Figura 11.3.d);

e) leve as placas para uma estufa a 37°C por 24 ou 48 horas ou mantenha-as à temperatura ambiente por mais tempo, com os devidos cuidados para evitar que insetos tenham acesso a elas;

f) observe, diariamente, as placas para notar a formação de colônias nos locais onde houve o toque com a ponta do seu dedo;

g) analise os resultados.

### Alguns comentários

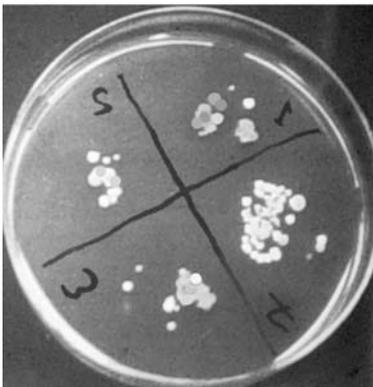


Figura 11.4: Cultivo de bactérias da microbiota das mãos sem lavar e após três lavagens.

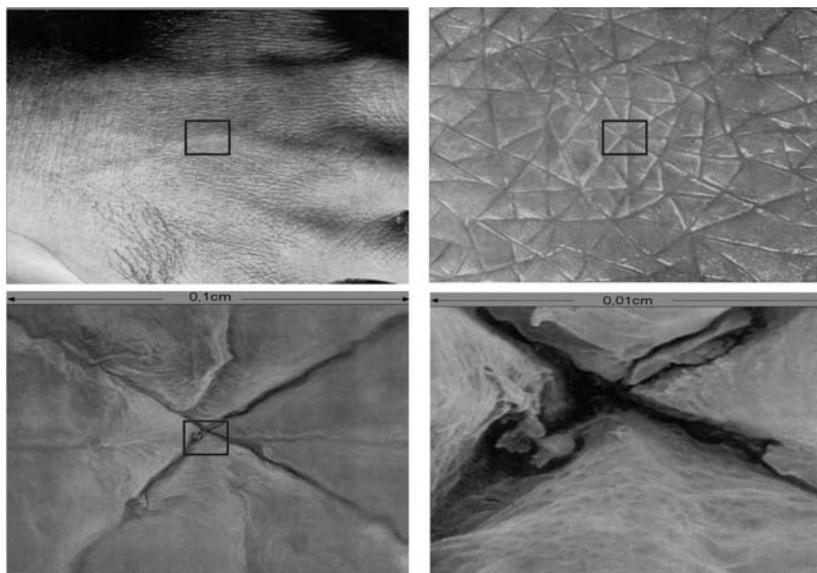
A higiene feita ao lavar as mãos não elimina todos os micróbios. Mas é claro que os que são estranhos à sua microbiota são retirados. Os seus, são seus, e não lhe fazem mal. Por isso, ao lavarmos as mãos nos livramos dos micróbios dos outros.

Como resultado desta aula prática, você verá que, mesmo lavando as mãos, seus dedos têm micróbios e que não são poucos. Talvez você perceba que o primeiro quadrante, onde você carimbou seu dedo seco, é o local em que apareceu o menor número de colônias. Porém será nesse quadrante que você encontrará a maior diversidade delas. Na Figura 11.4 você pode observar o resultado obtido em uma placa onde foi realizado este tipo de experimento.

À medida que você lavava as mãos ia umedecendo, progressivamente, as reentrâncias da pele e, dessa forma, os micróbios presentes nesse micronicho foram carregados para a superfície do EPITÉLIO, e assim transferidos para o meio de cultura da placa. Não se esqueça de que só há crescimento se o meio de cultura for adequado aos seus micróbios. Você pode compreender melhor esse fenômeno observando a Figura 11.5, onde é mostrada, de forma ampliada com aumentos múltiplos de 10 vezes, a topografia do epitélio da mão.

#### EPITÉLIO

Camada celular que cobre todas as superfícies internas e externas do corpo. O tecido epitelial, de acordo com o número de camadas celulares que o compõe, é classificado em simples e estratificado. Na pele o epitélio é estratificado.



**Figura 11.5:** Em escala de 10, a topografia da pele da mão é observada, notando-se as estruturas que a compõem, de acordo com a ampliação utilizada. O quadrado central de cada imagem representa a área que está sendo ampliada.

Um tipo de micróbio muito comumente associado à pele humana é o **STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS**.

Para se perceber a olho nu a presença de micróbios, em um ambiente qualquer, é necessário o fator tempo, do qual dependem todos os fenômenos biológicos. Neste caso, é necessário o tempo para que ocorram as divisões sucessivas da célula, que vão aumentando em número, até formar colônias de tamanhos visíveis. Nada diferente de um processo de gravidez, onde também o número de células aumenta em função do tempo, até que a célula ovo se transforme num ser visível, quer um exemplo biológico melhor?

Para saber o tipo de micróbios que formam as colônias na placa, você só precisa repetir a prática de microscopia com coloração de Gram.

Para descartar a placa deste experimento, você deve proceder conforme recomendado na primeira parte desta aula.

#### **STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS**

É um tipo microbiano comumente encontrado na microbiota da pele e das mucosas das pessoas. Em face da sua ampla distribuição pelo corpo, são facilmente detectados em exames bacteriológicos que buscam diagnosticar a presença de micróbios no ambiente onde há atividade humana. É comum haver relatos da presença deste tipo de bactérias em maçanetas, corrimões, telefones públicos e cédulas ou moedas. Agora até dá para você entender por que se encontram mais micróbios nas cédulas de R\$1,00 do que nas de R\$100,00, que circulam no comércio!

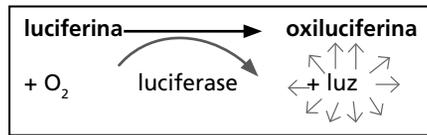
Mais detalhes você pode obter acessando o site:

<http://medinfo.ufl.edu/year2/mmid/bms5300/bugs/staepid.html>

**BIOLUMINESCÊNCIA**

Emissão de luz fria e visível por seres vivos, resultante da oxidação orgânica de compostos protéicos (luciferinas), mediada pela atividade catalítica da enzima luciferase. É observada em vários organismos, de bactérias até peixes, e constitui uma forma amplificada de um processo mais geral que ocorre em toda célula: a quimioluminescência.

**3ª Parte: Demonstração de bactérias produtoras de BIOLUMINESCÊNCIA, associadas à microbiota de peixes marinhos**



Para executar esta prática, você deve trazer um peixe marinho (tem de estar fresco ou conservado na geladeira sem adição de nenhum conservante).

A esta altura, já é desnecessário lembrar que os trabalhos têm de ser realizados com as manobras assépticas e que você deve usar as placas com meio Agar Nutritivo Salgado (ANS). A composição desse meio é a mesma do Agar nutritivo descrito na Aula 8, porém com a concentração de cloreto de sódio aumentada para 3,5%, ou seja, semelhante àquela da água do mar.

Leia e discuta com seu tutor ou com seus colegas de pólo a seqüência dos procedimentos desta etapa da aula, para depois executá-los:

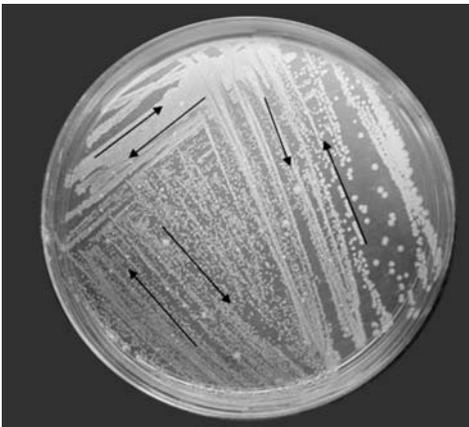
1- marque as placas de ANS respectivamente com as letras P (peixe) e B (bactérias). Se só tiver uma placa, divida-a e marque os respectivos locais;

2- abra o invólucro do *swab* e, segurando-o pelo cabo, recolha uma amostra da microbiota do peixe. Para isto, esfregue o algodão da ponta do *swab* na cloaca ou na guelra do animal. Em seguida, encoste a ponta do *swab* em um ponto na superfície da placa, marcada com “P”. O *swab*, após o uso, deve voltar para o invólucro para ser descartado;

3- o próximo passo vai ser espalhar, pela superfície da placa, os micróbios que foram depositados no local onde o *swab* encostou. Para isto, você vai precisar da alça metálica. A haste da alça está fixada num cabo de madeira, por isso, antes de flambá-la molhe bem o cabo para não queimar;

4- flambe a alça e a use para espalhar, pela superfície da placa, o material que foi semeado com o *swab*. A melhor maneira de espalhar é fazendo um movimento em ziguezague. À primeira vista, parece que nada foi colocado na superfície do meio de cultura. Não se preocupe, é assim mesmo, pois o resultado desse tipo de experimento só vai poder ser visualizado após 18 a 24 horas;

5- dando continuidade, flambe novamente a alça e, assepticamente, encoste sua ponta sobre a massa celular da cultura de bactérias bioluminescentes que está no tubo. Um simples toque é suficiente. Use essa alça impregnada de bactérias para semear a placa “B”, repetindo o processo de espalhamento, conforme descrito no item 4. O objetivo do espalhamento é distribuir as bactérias de tal maneira que você consiga separá-las individualmente. Cada bactéria isolada dará origem a uma colônia, ou seja, a uma população clonada. A **Figura 11.6** mostra o resultado de um processo de obtenção de clones microbianos. Outra opção para o trabalho com bactérias bioluminescentes é usar um *swab* para semear as bactérias da suspensão e usando de sua criatividade, faça desenhos na placa. É uma forma lúdica de trabalhar em Microbiologia.



**Figura 11.6:** Modelo de crescimento bacteriano, após semear a placa pelo processo de espalhamento, conforme indicado pela posição das setas.

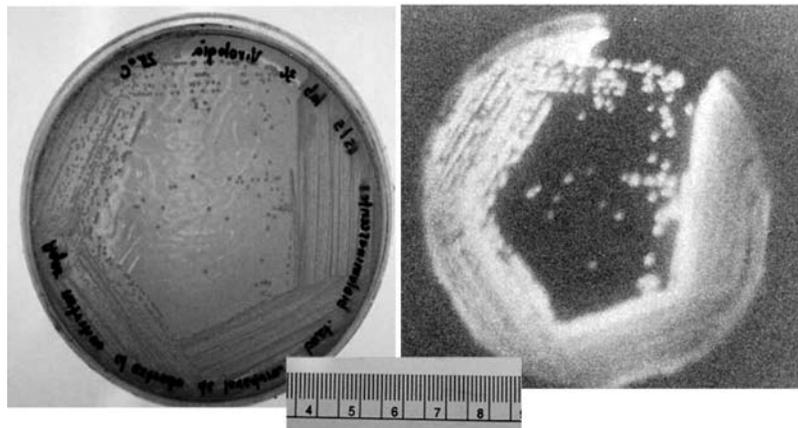
A placa deve ser incubada à temperatura ambiente (cuidado com formigas e outros insetos!) e, logo após o aparecimento das colônias (18 a 24 horas), ela deverá estar com o aspecto semelhante ao observado na **Figura 11.6**. Para conseguir observar a bioluminescência você deve examinar as placas num local sem luz, como um aposento que possa ser deixado completamente escuro. Se você não dispuser desse aposento, pode usar como artifício uma caixa de papelão, onde as placas são colocadas e observadas através de um pequeno orifício. Outra possibilidade é cobrir-se com um pano preto grosso o suficiente para impedir a passagem de luz, conforme ilustrado na **Figura 11.7**.



**Figura 11.7:** Usando criatividade para observar o fenômeno da bioluminescência bacteriana.

Como a bioluminescência só pode ser observada em locais escuros, a pessoa na **Figura 11.7** está mimetizando as condições do fundo do mar.

A bioluminescência só aparece na presença de oxigênio, pois as bactérias necessitam do  $O_2$  para que ocorra o fenômeno, conforme você pode ver no fundamento da reação apresentado na figura do verbete bioluminescência. Você pode apreciar o belo efeito da bioluminescência em um experimento laboratorial na **Figura 11.8**.



**Figura 11.8:** Placa com cultura de bactérias bioluminescentes, observada após 24 horas de incubação à temperatura ambiente. À esquerda a placa vista em ambiente iluminado e à direita observada no escuro.

Para manter a bioluminescência das colônias por um tempo maior, guarde as placas na geladeira ou use a alça depois de flambada para espalhar as células das colônias por uma maior superfície da placa.

É desnecessário lembrar que ao final do experimento, é necessário adicionar desinfetante na placa e aguardar o tempo necessário para depois descartá-la, conforme foi feito nas etapas anteriores.

### **CONSIDERAÇÕES SOBRE O PAPEL DO FENÔMENO DA BIOLUMINESCÊNCIA NO AMBIENTE MARINHO**

No ambiente marinho, durante a noite ou, de forma contínua, nas regiões abissais, a bioluminescência desempenha importante papel na cadeia alimentar. Quando as bactérias bioluminescentes que, normalmente, estão em suspensão na água do mar, dão de encontro com

qualquer fragmento de matéria orgânica, tal como resíduos de animais mortos afundando, utilizam esses fragmentos como meio de cultura. Com o crescimento populacional, a massa microbiana passa a ser detectada em função da luminescência que emite. No ambiente escuro, esse brilho atrai peixes, que se alimentam desses resíduos. As bactérias continuam se multiplicando no intestino desses peixes que, ao defecarem, colocam mais dessas bactérias no mar, e assim garantem a próxima refeição. Você já reparou que os pescadores alegam que se pescarem à noite pegam mais peixes? Depois de jogarem a isca, esperam, esperam e... físgam! Não seria mais rápido se banhassem a isca com uma suspensão concentrada de bactérias bioluminescentes?

A relação peixes abissais x bactérias bioluminescentes é tão íntima que alguns deles, como o peixe-lanterna, têm colônias dessas bactérias incorporadas em seu corpo, como órgãos luminosos que acendem e apagam em função do abrir e fechar da membrana onde estão contidas. Você pode observar um exemplo dessa interação na **Figura 11.9**.



**Figura 11.9:** Peixe-lanterna com o órgão bioluminescente na parte inferior do olho.

Em função das propriedades bioluminescentes serem dependentes da presença de oxigênio molecular, esse fenômeno tem sido explorado como um processo bioindicador da qualidade da água pois, quanto mais poluída for a água, menor é o teor de oxigênio nela dissolvido. Dessa forma, suspensões contendo  $10^9$  bactérias bioluminescentes da espécie *Vibrio fischeri* são adicionadas a uma amostra da água e o grau de bioluminescência exibido vai ser diretamente proporcional à concentração de  $O_2$  dissolvido. Esse tipo de experimento é utilizado pelas empresas exploradoras de petróleo como uma forma de vigilância ambiental onde atuam. Mais detalhes sobre esse aspecto técnico podem ser encontrados na página da empresa Corbis ([www.corbis.com](http://www.corbis.com)).

## CONCLUSÃO

Como você observou, os micróbios fazem parte de todos os ecossistemas da Natureza, quer seja terrestre, aquático ou o corpo dos seres humanos ou de outros animais. Também viu que eles podem ser observados quando lhes são dados nutrientes e tempo para o seu desenvolvimento. Os micróbios do ar geralmente estão sob a forma de esporos ou, em casos especiais, como num espirro, formas bacterianas vegetativas ficam em suspensão no ar. Nas regiões afóticas do mar, as bactérias bioluminescentes desempenham importante papel na cadeia alimentar, sinalizando para os animais marinhos encontrarem seu alimento. Podem, ainda, ser utilizadas como indicadoras de poluição da água, por só se desenvolverem em ambiente não poluído.

## RESUMO

Nesta aula, foram desenvolvidas técnicas que permitiram a comprovação da presença dos micróbios associada ao corpo humano (mãos), ao corpo de peixes marinhos e ao ar. Para detectá-los, o ar ambiente, partes do corpo humano e de peixes marinhos foram postos em contato com meios contendo nutrientes que favoreceram o crescimento populacional desses micróbios. Todo esse processo aconteceu em função do tempo decorrido. Você verificou que, com a lavagem

das mãos, os micróbios que não fazem parte da sua microbiota são removidos, mas os seus permanecem. No ar também há micróbios, como você pôde constatar ao caçá-los com uma placa de meio de cultura deixando-a incubando por um tempo superior a 24 horas. O fenômeno da bioluminescência bacteriana também foi demonstrado, destacando a influência do mesmo para as áreas afóticas do ambiente marinho.

### **INFORMAÇÃO SOBRE A PRÓXIMA AULA**

Na próxima aula, você verá mais detalhes sobre os micróbios eucarióticos.



## Micróbios eucarióticos

### Meta da aula

Apresentar a participação dos micróbios eucariontes na biodiversidade do nosso planeta.

# objetivos

Esperamos que, após o estudo do conteúdo desta aula, você seja capaz de:

- correlacionar a nomenclatura com a taxonomia adotada para agrupar os micróbios eucariontes;
- dar exemplos de estruturas peculiares às diferentes classes de protozoários;
- relacionar os tipos de pigmentação das algas com os nichos ecológicos que elas podem ocupar no ambiente marinho;
- identificar as fases de desenvolvimento da população de fungos filamentosos de acordo com o aspecto das suas colônias;
- indicar e dar exemplos de situações que demonstrem as vantagens das associações celulares para a sobrevivência das espécies na biosfera.

### Pré-requisitos

Para o bom acompanhamento desta aula, você deve estar familiarizado com o conceito de células eucarióticas da Aula 3, com o processo de digestão enzimática microbiana visto na Aula 4 e com a classificação microbiana apresentada na Aula 9.

## INTRODUÇÃO

### RENÉ JULES DUBOS (1901-1982)

Microbiologista, educador, escritor, filósofo e ambientalista francês naturalizado americano, pioneiro na descoberta dos antibióticos, foi um dos mais influentes biólogos do século XX e um dos responsáveis pela conscientização da humanidade sobre as questões ambientais.

Você já sabe que as células são as unidades fundamentais dos seres vivos e que podemos separá-las em eucarióticas e procarióticas, de acordo com suas características estruturais. Os micróbios são multidões invisíveis que reinam em nosso planeta. Para eles, nós, os homens, somos intrusos nos seus domínios. Pelos cálculos do professor **RENÉ DUBOS**, da Universidade Rockefeller, a massa total dos seres microbianos existente na Terra é, aproximadamente, vinte vezes maior do que a dos animais. O resultado das atividades microbianas pode ser percebido por toda parte: árvores e flores se alimentam dos componentes nutritivos liberados pelos micróbios da crosta terrestre; o Mar Vermelho deve o seu nome à cor resultante da alta densidade populacional de micróbios fotossintéticos impregnados de pigmento vermelho que vivem nesse mar. Também a luminescência das ondas no oceano é devida à abundância dos micróbios bioluminescentes.

O limite que marca as fronteiras entre o mundo invisível e o visível é a fração do milímetro que pode ser vista a olho nu. Os seres eucarióticos que se encontram além desta fronteira podem ser classificados por ordem de grandeza em duas categorias. A mais numerosa é a dos grandes protistas, que medem 200  $\mu\text{m}$  em média. Estes são representados pelos protozoários: amebas, ciliados e flagelados.

Na segunda categoria, estão os pequenos protistas que medem, em média, 5  $\mu\text{m}$ . Dentre estes estão incluídos os fungos e as algas unicelulares. Estas últimas são fotossintéticas em função da clorofila que apresentam. Os fungos são heterotróficos e se caracterizam por apresentarem células denominadas hifas, que formam as estruturas filamentosas típicas dos bolores.

Vamos estudar um pouco das características dos micróbios eucarióticos, classificados no domínio *Eukarya*. Em face da grande diversidade desses micróbios, foi feita uma seleção de alguns deles para serem aqui enfocados. Mas, se ao final desta aula, você sentir curiosidade, poderá pesquisar sobre eles na internet e encontrará mais detalhes deste fascinante mundo que, agora, passaremos a apresentar.

## OS EUKARIONTES

A principal característica desses seres é que o material genômico está envolvido por uma membrana denominada carioteca, cariomembrana ou, simplesmente, membrana nuclear, formando o núcleo. Além desta estrutura, outras organelas encontradas nos eucariontes são os cloroplastos e/ou as mitocôndrias, que estão envolvidas, respectivamente, na fotossíntese e na respiração. Exemplos desses tipos celulares são as giárdias (veja a **Figura 12.1**) e as tricomonas (veja a **Figura 12.2**).

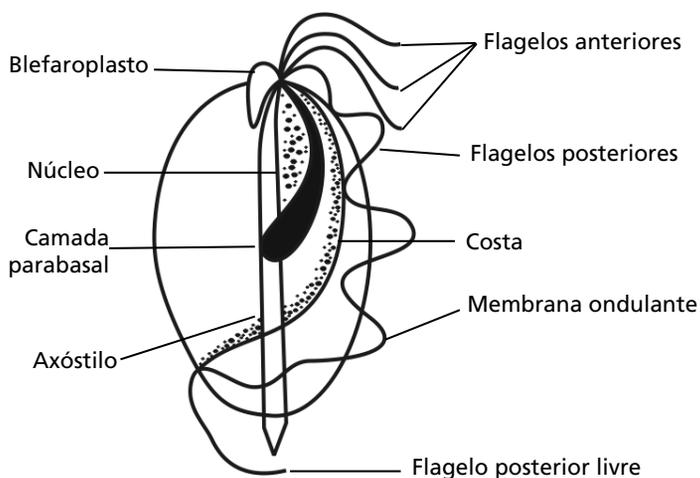


Evidências genéticas e moleculares sugerem que os cloroplastos e as mitocôndrias foram originados a partir de relações simbióticas envolvendo bactérias. Nos protistas, seres em que estas duas estruturas estão ausentes, encontra-se um tipo de organela denominada hidrogenossomo, que está relacionada à obtenção de energia em condições anaeróbicas, a partir do hidrogênio molecular e não do oxigênio como ocorre nas mitocôndrias.



**Figura 12.1:** *Giardia lamblia* (agente associado à giardíase).

Foto cedida pela Dra. Loraine Campanati, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ.



**Figura 12.2:** Desenho esquemático de um tricomonas.

De acordo com a árvore filogenética mostrada na Aula 9 desta disciplina, os seres eucarióticos formam uma linhagem evolutiva diferente dos procarióticos. O domínio *Eukaria* vai desde os micróbios unicelulares às plantas e animais. Os micróbios eucarióticos são classificados em dois grupos: o dos protistas (protozoários e algas) e o dos fungos. Essa classificação fundamenta-se nas características estruturais e metabólicas que esses eucariontes apresentam.

Na morfologia dos protozoários e dos fungos existe uma íntima correlação entre estrutura e função. Assim, a mobilidade dos protozoários pode ser feita por pseudópodos, flagelos ou cílios. Os fungos, em virtude da rígida parede de peptidoglicano, são naturalmente imóveis, porém suas hifas, de acordo com a função que exercem, diferenciam-se morfológicamente, conforme desempenhem atividades de sustentação, nutrição ou reprodução.

Agora, vamos abordar mais detalhadamente cada um desses grupos de organismos unicelulares.

## PROTISTAS

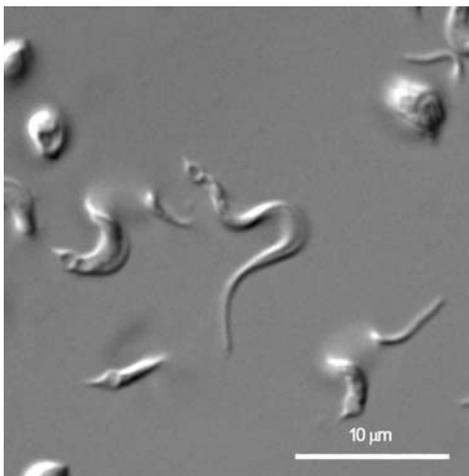
Quando estudamos os protistas, vemos que eles são classificados em dois grandes grupos, um com características de animais (os protozoários) e outro com características de vegetais (as algas).

Como seres unicelulares, os protozoários têm tamanho que varia de cinco a 200  $\mu\text{m}$ . São despigmentados, heterotróficos, e têm a alimentação à base de bactérias ou detritos orgânicos, capturados por fagocitose. As algas são eucariontes que fazem fotossíntese por meio de suas organelas pigmentadas, chamadas cloroplastos.

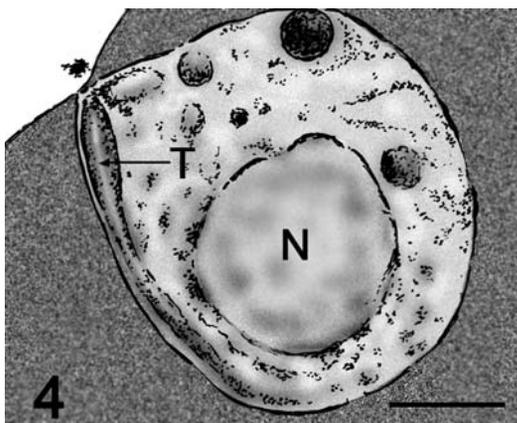
## EUKARIA – PROTOZOÁRIOS

Estruturalmente, os protozoários são desprovidos de parede celular e possuem organelas que lhes permitem mobilidade, que podem ser flagelos, cílios ou movimentos amebóides. Embora a maioria seja de vida livre, alguns tipos de protozoários estão associados com doenças em seres humanos, animais ou plantas. Como exemplos, em humanos, podem ser citados os *Trypanosoma cruzi*, na doença de Chagas (Figura 12.3). Diferentes tipos de animais (bovinos, eqüinos, felinos e caninos) podem apresentar doenças (babesioses), em consequência de infecções

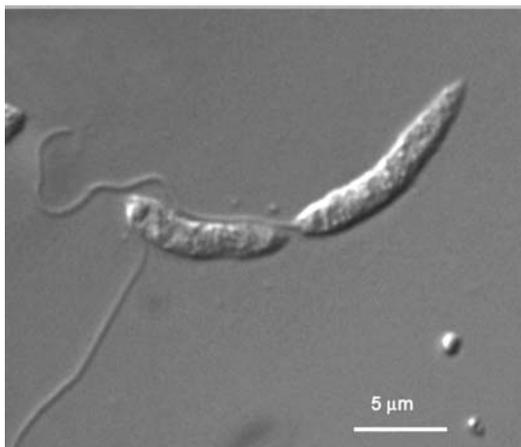
por protozoários do gênero *Babesia*, transmitidas por carrapatos (Figura 12.4). Plantas, como os tomateiros, podem apresentar lesões quando infectadas por protozoários da espécie *Phytomonas serpens* (Figura 12.5).



**Figura 12.3:** *Trypanosoma cruzi* (agente da doença de Chagas).  
Foto cedida pela Dra. Thaís Cristina B. Souto-Padrón, Instituto de Microbiologia Prof. Paulo Góes, UFRJ.



**Figura 12.4:** Desenho esquemático, apresentando estruturas de *Babesia equi*, mostrando um vacúolo alimentar tubular (T) e o núcleo (N).



**Figura 12.5:** Micrografia de *Phytomonas serpens*.  
Foto cedida pela Dra. Cláudia M. d'Ávila-Levy, Instituto de Microbiologia Prof. Paulo Góes, UFRJ.

Os protozoários estão classificados em cinco grandes grupos: *Mastigophora*, *Euglenoides*, *Sarcodina*, *Ciliophora* e *Apicomplexa*.

Os *Mastigophora* são genericamente conhecidos como flagelados, pois se deslocam por meio do movimento de seus flagelos. Na Natureza, eles podem ser encontrados como seres de vida livre ou como parasitas. Na condição de parasitas (por exemplo, *Trypanosoma*) estão associados com infecções de seres humanos ou outros animais, transmitidas por intermédio de artrópodes da ordem hemíptera. Plantas também podem ser parasitadas por protozoários da classe *Mastigophora* (por exemplo, *Phytomonas*).

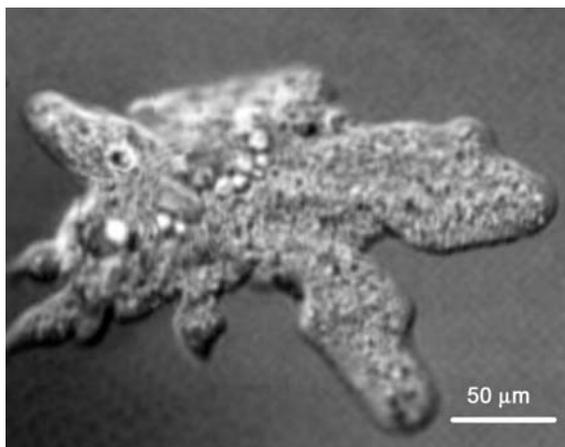
Os *Euglenoides* são aqueles capazes de realizar fotossíntese, pois possuem cloroplastos. Estruturalmente, também apresentam flagelo como os mastigóforos. Por serem autotróficos, os euglenóides são encontrados como seres de vida livre em ambientes aquáticos iluminados. A grande maioria deles vive em águas doces, embora alguns sejam habitantes marinhos.

Os membros do grupo *Sarcodina* são aflagelados, mas se deslocam através da emissão de **PSEUDÓPODOS**. Os representantes deste grupo são as amebas e os foraminíferos.

As amebas são protozoários que podem existir sob as formas vegetativa ou cística, habitantes naturais de ambientes de água doce ou salgada. Algumas espécies estão associadas com doenças gastrintestinais em humanos. A mais freqüente nestes casos é a *Entamoeba histolytica*. Na **Figura 12.6**, você pode observar o aspecto de uma ameba emitindo pseudópodos.

#### PSEUDÓPODOS

Extensões digitiformes citoplasmáticas de seres unicelulares, utilizadas para alimentação, fixação ao substrato e locomoção.



**Figura 12.6:** Ameba em processo de locomoção e alimentação.



Consultando o endereço eletrônico [http://www.insp.mx/cisei/proy\\_11.html](http://www.insp.mx/cisei/proy_11.html), você encontrará mais detalhes sobre as amebas, principalmente aquelas de vida livre dos gêneros *Acanthamoeba* e *Naegleria*. Ambos os tipos podem proliferar no organismo de indivíduos imunodeficientes, gerando quadros definidos como **INFECÇÕES OPORTUNISTAS**.

### INFECÇÕES OPORTUNISTAS

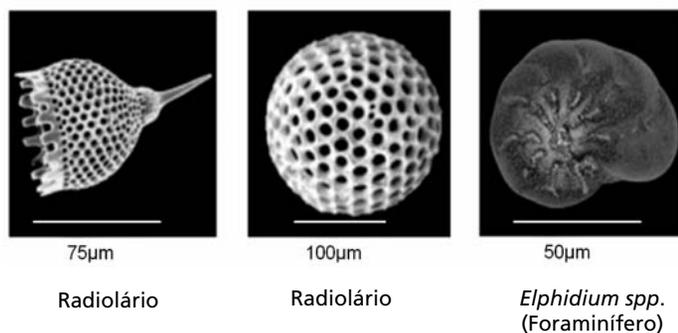
São aquelas resultantes de proliferação de seres de vida livre, nos tecidos de animais que apresentam quadro de deficiência do sistema imune.

### RESSURGÊNCIA

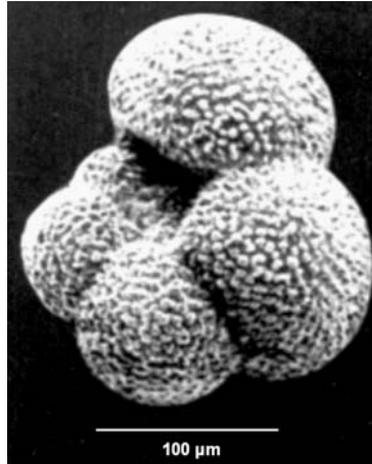
Movimento ascendente de águas profundas para a superfície.

Os foraminíferos e os radiolários são organismos marinhos, aflagelados que, em situações de **RESSURGÊNCIA**, podem proliferar, dando origem a grandes massas populacionais, que se apresentam como manchas na superfície do mar. Essa proliferação exacerbada deve-se aos nutrientes acumulados no sedimento marinho, que são trazidos à superfície. Estruturalmente, as células dos foraminíferos apresentam uma carapaça rígida, em forma de malha, cobrindo a membrana plasmática que funciona como um exoesqueleto, protegendo o protoplasma. Essa carapaça é formada principalmente de carbonato de cálcio ou calcário (nos foraminíferos) e sílica (nos radiolários), complexado com proteínas secretadas pelo protozoário. A composição química inclui, além do carbonato de cálcio, outros compostos inorgânicos como óxido de silício (sílica) e sulfato de magnésio. A emissão dos pseudópodos ocorre através dos espaços da trama da malha.

Estruturalmente, os foraminíferos podem ser formados por uma ou mais carapaças, sendo classificados, respectivamente, como unilocular ou multilocular. Na **Figura 12.7**, você pode apreciar belíssimas imagens de carapaças uniloculares desse grupo de protozoários e na **Figura 12.8**, você observa uma imagem, obtida por microscopia eletrônica de varredura, de um multilocular.



**Figura 12.7:** Tipos de radiolários e foraminíferos ([http://www.cientic.com/tema\\_protista\\_img6.html](http://www.cientic.com/tema_protista_img6.html)).



**Figura 12.8:** Microscopia eletrônica de varredura de um foraminífero multilocular.  
(Foto retirada do site: <http://www.cpgg.ufba.br/lec/Forams.htm>)



Na cadeia alimentar, os foraminíferos são alimento para muitos animais, principalmente, camarões e alguns tipos de moluscos. A presença de sedimentos com alto teor de carcaças calcáreas de foraminíferos tem sido utilizada pela indústria petrolífera como sinalizadora de áreas onde há grande probabilidade da existência de petróleo. Você pode encontrar mais detalhes desse fascinante grupo de protozoários se visitar o endereço eletrônico: <http://www.horta.uac.pt/ct/forum/questoes/faq/invertebrados/foraminiferos.html>

### **ATIVIDADE**



1. Vamos ver se você está sintonizado com a nomenclatura até agora empregada nesta aula. Para isto, colocamos uma série de termos em ordem alfabética, para que você os posicione numa chave, de acordo com o lugar que ocupam na taxonomia dos micróbios eucarióticos. Algas; amebas; apicomplexa; euglenoides; eucaria; fungos; protistas; foraminíferos; mastigófora; protozoários; sarcodina.

**RESPOSTA COMENTADA**



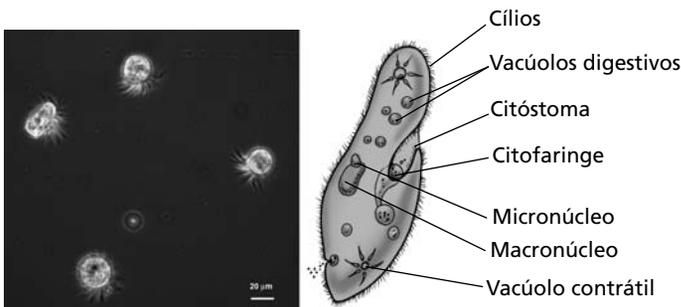
Se a árvore filogenética que você construiu for igual a esta, considere-se genial. Se não conseguiu, releia o texto, desta vez anotando as chaves de classificação à medida que as encontrar.

Os protozoários do grupo *Ciliophora*, comumente chamados ciliados (Figura 12.9), apresentam cílios distribuídos pela superfície. Estas estruturas são extensões dos **MICROTÚBULOS** e servem tanto para locomoção quanto para a apreensão de alimentos. Os cílios estão dispostos em fileiras pela superfície das células, e executam um movimento ondulatório sincrônico. Uma outra peculiaridade dos ciliados é possuírem duas estruturas nucleares denominadas macronúcleo e micronúcleo. Este último é o responsável pelos processos de síntese de DNA (reprodução sexuada). Ao macronúcleo é atribuída a função de síntese de mRNA que, quando traduzida, desencadeará a produção de enzimas e proteínas estruturais para atender às necessidades vitais das células.

Os ciliados são células tão especializadas, que apresentam uma reentrância com a função de boca, denominada citóstoma, que tem a função de iniciar a digestão das células microbianas que são predadas por esses protozoários. O alimento é transferido do citóstoma para o vacúolo alimentar, através de uma estrutura denominada citofaringe.

**MICROTÚBULOS**

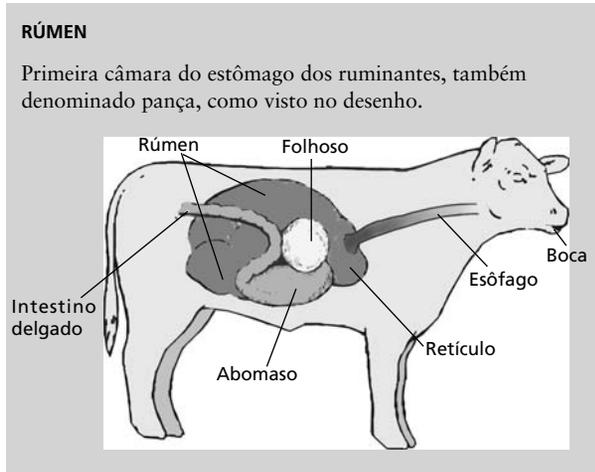
São estruturas tubulares, de natureza protéica, que constituem o esqueleto das células. Os filamentos do microtúbulo têm diâmetro médio de 24 nm e comprimento variado. Estão arranjados pelo citoplasma, formando uma malha denominada citoesqueleto. Além da função esquelética, os microtúbulos servem como trilhos no tráfego intracelular de vesículas e na estruturação dos flagelos nos eucariontes.



**Figura 12.9:** À esquerda: microscopia de contraste de fase mostrando vários ciliados. À direita: representação esquemática de um *Paramecium*.

Os ciliados são normalmente encontrados em quase todos os ambientes aquáticos, quer sejam de água doce, salobra ou salgada. Quando as condições ficam adversas, os ciliados se protegem adotando uma forma de cisto e assim permanecem em estado de latência, para resistirem às intempéries ambientais. Alguns ciliados estão envolvidos em infecções intestinais de seres humanos. Neste caso, temos o *Balantidium coli*. Mas, a grande maioria deles

convive em associações simbióticas com os animais herbívoros, ruminantes ou não. Nos ruminantes, a população de ciliados vive no **RÚMEN**, e nos demais herbívoros ocupam o **CECO**. O aporte da celulose ingerida pelo ruminante sob a forma de capim, fornece aos micróbios anaeróbicos a fonte de carboidratos. Muitos destes **MICRÓBIOS CELULOLÍTICOS** são bactérias metanogênicas. O gás metano produzido é liberado quando o animal arrota. O equilíbrio da população microbiana envolvida no processo de hidrólise da celulose é mantido pelos



**CECO**

Pequena estrutura em forma de bolsa, com que se inicia o intestino grosso, e onde se abrem o íleo, o cólon e o apêndice vermiforme.

**MICRÓBIOS CELULOLÍTICOS**

Procariontes anaeróbicos que fazem a hidrólise da celulose, liberando glicose.

ciliados, que são eficientes degradadores de células bacterianas. Esta é a razão por que as exigências dos ruminantes em relação ao nitrogênio são muito mais simples do que nos outros mamíferos. Enquanto os seres humanos necessitam dos **AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS** na dieta, os ruminantes se satisfazem apenas com amônia ou uréia. Estes compostos nitrogenados são incorporados pelas populações microbianas procarióticas que são predadas pelos eucariontes que habitam o rúmen desses animais. Por isso, diferente das outras classes de mamíferos, nos ruminantes a maior parte das vitaminas e dos aminoácidos necessários ao seu metabolismo é oriunda da degradação das células microbianas presentes no rúmen.

**AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS OU INDISPENSÁVEIS**

São aqueles que o organismo de um animal não consegue sintetizar (mas podem ser sintetizados por outro animal ou por um vegetal). Os aminoácidos essenciais devem fazer parte da dieta alimentar deste animal, para evitar a desnutrição. Os principais aminoácidos que o organismo humano não consegue sintetizar são: treonina, leucina, metionina, valina, fenilalanina, isoleucina, triptofano, e lisina. Um aminoácido essencial para um animal pode ser dispensável para um outro.

Estima-se que existam 50.000 protozoários por  $\text{cm}^3$  do volume do rúmen e que cada 100g da matéria da pança contém 2,8 g de protozoários, que são degradados pelo processo de **DIGESTÃO BILIAR** dos ruminantes.

Os protozoários do grupo *Apicomplexa* são também chamados esporozoários. Dentre estes, destacam-se os plasmódios, agentes responsáveis pela malária, doença humana transmitida pela picada de mosquitos do gênero *Anopheles*. No corpo dos anofelinos, as células dos plasmódios sofrem alterações morfológicas até atingirem a forma filamentosa denominada **ESPOROZOÍTO**. É sob esta forma que o protozoário pode suportar a mudança do hospedeiro invertebrado **PECILOTÉRMICO** para vertebrado homotérmico.

Dentre os esporozoários parasitas dos seres humanos, merecem destaque, além dos plasmódios, os toxoplasmas (*Toxoplasma gondii*), agentes da toxoplasmose, doença infecciosa que assume maior importância quando acomete mulheres grávidas, pois podem se localizar no cérebro do embrião provocando deficiências neuronais, quando não ocorre aborto espontâneo. Na **Figura 12.10**, você pode observar um desenho mostrando as estruturas das células dos *T. gondii*.

### DIGESTÃO BILIAR

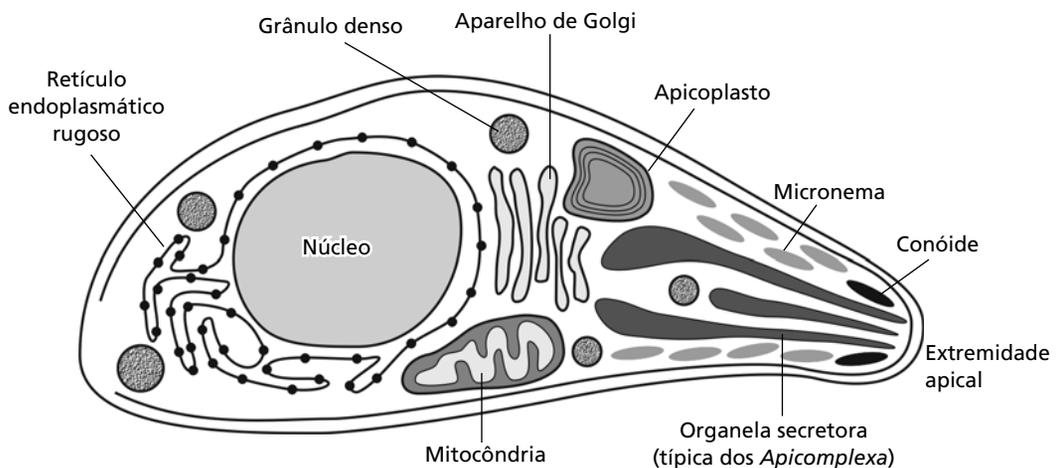
É mediada pela bile, que tem o efeito detergente, para dissolver gorduras, agindo sobre os lipídios das membranas plasmáticas dos ciliados. Quimicamente a bile é constituída por sais de desoxicolato (sais biliares).

### ESPOROZOÍTO

Tipo celular resultante da multiplicação da célula-ovo (zigoto formado pela união dos gametócitos) até à forma de oocisto, no corpo dos anofelinos. Do oocisto maduro são liberados os esporozoítos, que invadem todo o corpo do mosquito, inclusive as glândulas salivares. Através da picada, quando o mosquito regurgita a saliva, que tem ação anticoagulante, ocorre a infecção do hospedeiro vertebrado.

### PECILOTÉRMICO

Ser que tem a temperatura de seu corpo regulada pela temperatura ambiente, enquanto os homotérmicos, também conhecidos como animais de sangue quente, mantêm o corpo a uma temperatura constante, embora sob condições de doença possam apresentar-se febris.



**Figura 12.10:** Desenho esquemático da ultra-estrutura do *Toxoplasma gondii*.



### ATIVIDADE

2. Mais uma vez vamos testar a sua sintonia com a nomenclatura utilizada para identificar as estruturas dos protozoários. Correlacione os termos listados na coluna da esquerda, com os da direita:

- |                  |     |  |
|------------------|-----|--|
| 1. Citóstoma     | ( ) | Responsável pela síntese de RNA nos ciliados.    |
| 2. Macronúcleo   | ( ) | Carapaça calcárea.                               |
| 3. Esporozoíto   | ( ) | Estrutura dos <i>Sarcodina</i> .                 |
| 4. Pseudópodos   | ( ) | Estrutura peculiar de <i>Toxoplasma gondii</i> . |
| 5. Foraminíferos | ( ) | Fase morfológica das células dos plasmódios.     |
| 6. Micronema     | ( ) | Ingestão de nutrientes pelos ciliados.           |

### RESPOSTA COMENTADA

*Você acertou se posicionou os números na coluna da direita na seqüência: 2, 5, 4, 6, 3, 1. Viu como foi fácil? Se não acertou, releia o texto desde o começo.*

*Se você quiser ter um domínio maior dessa terminologia, prepare uns retângulos do tamanho de uma pedra de dominó e, em cada metade deles, cole uma palavra ou uma frase relativos às características dos protozoários e jogue com seus colegas de pólo, seguindo as mesmas regras do dominó, porém juntando as palavras com o respectivo complemento.*

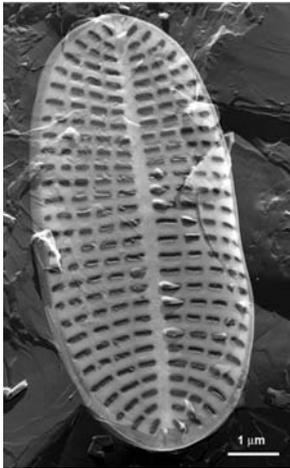
## EUKARIA – ALGAS

As algas formam um grande grupo de protistas muito diverso cujo crescimento populacional depende dos minerais dissolvidos na água. A grande característica das algas é a presença de clorofila e sua capacidade de fazer fotossíntese oxigênica. As algas podem existir como células individualizadas, em suspensão na água, ou agregada, formando colônias. Elas apresentam uma carapaça ou exoesqueleto, envolvendo a membrana plasmática, cuja morfologia e composição química variam de acordo com a espécie da alga. Por exemplo, na **Figura 12.11** é mostrado o arranjo estrutural da carapaça de uma diatomácea. A carapaça destas algas tem o nome de **FRÚSTULA**.

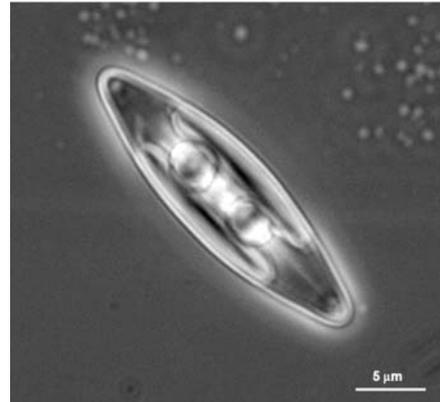
### FRÚSTULA

Denominação dada à carapaça das diatomáceas. Estrutura exoesquelética formada basicamente por óxido de silício ( $\text{SiO}_2$ ), conhecido pelo nome de sílica.

No oceano, a população das algas é regulada pela disponibilidade dos íons inorgânicos, os quais, quando estão presentes em concentrações acima dos níveis atróficos, permitem a explosão populacional desses eucariontes, gerando manchas coloridas em áreas litorâneas ou áreas de ressurgências oceânicas. A morfologia das células das algas depende da presença de frústulas ou de tecas (como você verá mais adiante), porém quando estas estruturas estão ausentes a célula toma um formato amebóide.



**Figura 12.11:** Réplica da superfície de uma diatômácea mostrando a organização estrutural da frústula.



**Figura 12.12:** Microscopia óptica de uma diatômácea.



As algas se caracterizam por executarem o processo de fotossíntese, pois dispõem de clorofila. Essa é uma molécula que contém em sua estrutura um núcleo porfirínico. Este núcleo é uma molécula cíclica que possibilita o livre fluxo de elétrons ao seu redor. Em razão desse movimento, os elétrons são energizados e, neste estado, são transferidos para as moléculas que vão formar os carboidratos, em presença de  $\text{CO}_2$ , água e energia solar.

Quanto à pigmentação, as algas microscópicas unicelulares apresentam diferentes tonalidades: verde, vermelha e dourada. A cor verde é resultante da presença somente de clorofila.



Aqueles seres que parecem algas e têm a tonalidade azul, tomam essa cor em razão da presença adicional do pigmento ficocianina que, nessas células, predomina sobre a clorofila. Mas, preste atenção: são células procarióticas e são denominadas cianobactérias.

**CENTRÍOLO**

Organela citoplasmática de forma cilíndrica, composta de proteínas e presente nas células dos seres eucarióticos, responsável pela formação do fuso mitótico.

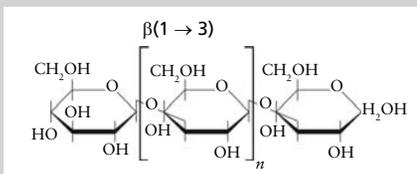
**FUCOXANTINA**

Pigmento carotenóide ( $C_{40}H_{60}O_6$ ). Os carotenos mais conhecidos são aqueles que dão cor à cenoura, aos crustáceos marinhos e aos flamingos que se alimentam desses crustáceos.

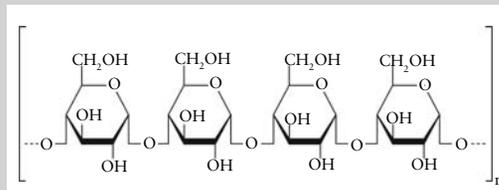
Nas algas de coloração vermelha, o pigmento que se sobrepõe à clorofila é a ficoeritrina. Estruturalmente, as células deste tipo de alga não têm um **CENTRÍOLO**, mas apresentam organelas denominadas anéis polares que são responsáveis pela organização dos microtúbulos do citoesqueleto. Outra peculiaridade é que o tipo de carboidrato que elas sintetizam como elemento de reserva energética se assemelha mais ao glicogênio dos animais do que ao amido das plantas.

Nas algas douradas, ou crisófitas, essa coloração é resultante da presença de pigmentos carotenóides que predominam sobre a clorofila e lhes conferem a coloração amarelo-esverdeada ou dourada. São, na maior parte, organismos unicelulares flagelados, autotróficos, presentes em ambientes marinhos e em águas continentais. Como pigmentos fotossintéticos possuem clorofila dos tipos *a* e *c*. Entretanto, estes pigmentos são mascarados pela cor castanho-dourada do pigmento **FUCOXANTINA**, abundante nos cloroplastos dessas algas. Quimicamente, a fucoxantina é uma molécula do grupo dos carotenos (carotenóide). Agora, preste atenção! Nem amido nem glicogênio, o polímero de glicose armazenado nas crisófitas tem o nome de crisolaminarina.

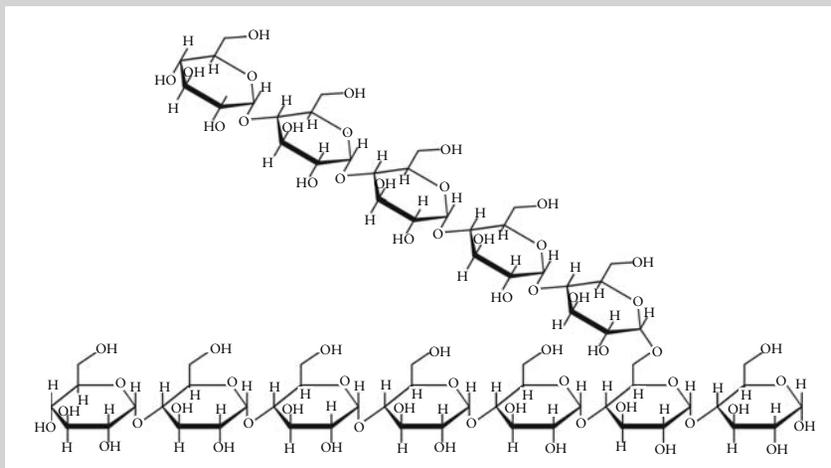
A crisolaminarina é um polímero de glicose que, estruturalmente, difere do amido e do glicogênio pois a ligação é do tipo  $\beta$ 1-3.



**Crisolaminarina (ligação  $\beta$ 1-3)**



**Amido (ligação  $\alpha$ 1-4)**



**Glicogênio (ligação  $\alpha$ 1-4 e  $\alpha$ 1-6)**

Os dinoflagelados (**Figura 12.13**) são, na sua maioria, algas unicelulares diflageladas, classificadas em, pelo menos, 2.100 espécies. Muitas destas são extremamente abundantes no fitoplâncton marinho, garantindo a grande produtividade de biomassa nesse ambiente.

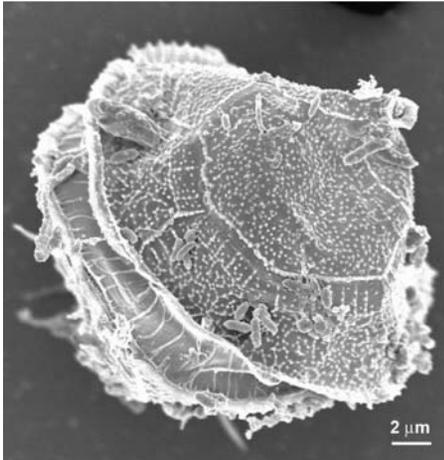
Os flagelos dos dinoflagelados estão localizados no interior de dois sulcos: um rodeia a célula como um cinto, enquanto o outro é perpendicular ao primeiro. A movimentação simultânea dos flagelos faz o dinoflagelado rodopiar como um pião. Estruturalmente, essas algas apresentam um tipo de elemento rígido, contido em vesículas situadas abaixo da membrana plasmática, que recebe o nome de teca. Quimicamente, as tecas são constituídas de celulose. A maneira como estas estruturas estão distribuídas na célula dão-lhe o aspecto de uma armadura antiga, como você pode observar na **Figura 12.13**.

A fotossíntese nos dinoflagelados é mediada pelos cloroplastos contendo clorofila dos tipos *a* e *c*. Entretanto, a presença adicional do pigmento **PERIDININA** mascara o verde, dando-lhes a coloração castanha. Há autores que acreditam que os cloroplastos dos dinoflagelados são oriundos de algas fotossintéticas, que foram incorporadas como simbioses pelas células de um ser primitivo que se transformou nos dinoflagelados, após o estabelecimento de um processo simbiótico entre esses dois tipos celulares. Essa hipótese é embasada pelo fato de o carboidrato de reserva acumulado nos dinoflagelados ser o amido, próprio dos vegetais.

#### **PERIDININA**

Nome do pigmento carotenóide dos dinoflagelados, semelhante à fucoxantina.

Os dinoflagelados são encontrados como simbioses, formando estruturas do corpo de outros seres como esponjas, cnidários, tunicados, cefalópodes, gastrópodes e platelmintos. As células desses dinoflagelados simbioses têm a forma esférica ou amebóide, em virtude da ausência das tecas. Sob essa forma são denominados zooxantelas. A tonalidade dourada sobressai nessas células sem tecas. A propriedade de fazer fotossíntese torna-os os principais responsáveis pela proliferação dos recifes de coral em águas tropicais, pobres em nutrientes. Os tecidos do coral podem conter até 30.000 dinoflagelados simbioses/mm<sup>3</sup>. Neste caso, em vez de amido o dinoflagelado produz glicerol, usado diretamente pelo coral. Uma vez que os dinoflagelados simbioses são fotossintéticos, estes corais apenas vivem em águas rasas (até 60 metros de profundidade). Muitas das formas estranhas dos corais resultam de um esforço para expor os seus simbioses à luz, de forma mais eficiente.



**Figura 12.13:** Microscopia eletrônica de varredura de um dinoflagelado.

As algas habitam, principalmente, ambientes aquáticos, como locais de água doce e marinha, além de solos.

As algas também podem ser encontradas em locais inusitados. Por exemplo, as algas verdes no pêlo do bicho preguiça e as algas douradas no pêlo do urso polar. Elas ajudam a camuflar esses animais no ambiente onde vivem.

Diversas características são usadas na classificação das algas, como o tipo de clorofila, polímeros de reserva que são capazes de acumular (amido e seus derivados), estrutura e composição da parede celular e tipo de motilidade.

**ATIVIDADE**



3. a. As algas têm tonalidades bem diferentes. Agora você vai relacionar coloração, pigmentos e tipo de carboidrato armazenado pelos diferentes tipos de algas.

Característica das algas	Pigmentos	Carboidrato de reserva
Verdes		
Vermelhas		
Douradas		

3.b. Explique de que forma a tonalidade das algas participa na absorção da luz, em diferentes profundidades na água do mar.

---



---



---

**RESPOSTA COMENTADA**

<i>Característica das algas</i>	<i>Pigmentos</i>	<i>Carboidrato de reserva</i>
Verdes	Clorofila	Amido
Vermelhas	Clorofila/Ficoeritrina	Semelhante ao glicogênio
Douradas	Clorofila/Fucoxantina	Crisolaminarina

*Essa foi fácil completar não foi? Se você já tinha memorizado a nomenclatura das características dos diferentes tipos de algas, parabéns! Se teve dificuldade volte ao texto ou faça também uma atividade lúdica que lhe facilitará a memorização.*

*Para responder à segunda parte, você deve se lembrar de que o comprimento de onda da faixa do vermelho do espectro de luz visível é mais bem absorvido quando se tem um filtro de cor verde. Se você tiver um filtro verde para absorver os raios de comprimento de onda da faixa do vermelho e um filtro vermelho para absorver os comprimentos de onda do verde ao azul, você poderá explicar por que as algas verdes ocupam predominantemente a camada de água até onde penetra a luz visível. O pigmento adicional das algas vermelhas permite que elas absorvam raios de comprimento de onda mais curto, ou seja, aqueles que atingem maior profundidade. Dessa forma, as algas vermelhas conseguem executar o processo de fotossíntese mesmo em profundidades de até 60 metros, onde a luminosidade residual é decorrente apenas dos raios do comprimento de onda da faixa do azul. Um exercício muito divertido para demonstrar isso na prática, e facilitar o seu entendimento sobre a retenção dos raios da cor vermelha pode ser feito utilizando quadrados de papel celofane de cor verde, vermelha, azul e amarela. Use um fundo multicolorido (as cores do arco-íris), cobrindo metade das imagens coloridas com os quadrados de papel celofane. O papel verde representativo da clorofila absorve preferencialmente os raios luminosos da faixa do vermelho. Se ao verde for sobreposto o papel azul, praticamente as cores vermelhas aparecem pretas, mostrando que a mistura dessas cores absorve mais luz. Agora, correlacione este fato com o potencial de absorção de raios luminosos pelas algas de diferentes cores e, assim, você poderá concluir que, em matéria de eficiência, as algas vermelhas se sobressaem no potencial de absorção de luz e, por isso, crescem mais rapidamente quando expostas à luz. Tal fato explica a maior frequência das marés vermelhas, além de serem estas algas aquelas encontradas nas regiões mais profundas do oceano.*

## EUKARIA – FUNGOS

Quem nunca ouviu alguém falar de fungo, mofo, bolor, cogumelo? Alguns reclamam do cheiro ou do aspecto bolorento visto sobre um sanduíche esquecido ou numa casca de queijo mofado. Outros os enaltecem, em razão da bebida ou do antibiótico que produzem.

As células dos fungos microscópicos podem ser individualizadas, como as leveduras, ou podem formar um arranjo filamentoso típico dos bolores (Figura 12.14). Os fungos macroscópicos são os cogumelos que recebem diversas denominações, tais como orelha de pau e o famoso *champignon* encontrado nos supermercados. Os fungos são seres quimiorganotróficos que habitam os mais diversos ambientes, como agentes degradadores. Alguns podem ser aquáticos, mas a maioria é terrestre e vive no solo associado a matéria em decomposição. A proliferação de fungos sobre a superfície de seres vivos pode se apresentar sob a forma de doenças, quer em plantas ou animais. Estruturalmente, as células dos fungos não possuem organelas locomotoras e apresentam uma parede rígida formada predominantemente por **QUITINA**, que lhes confere a forma. A alimentação dessas células é feita pela secreção de enzimas, que degradam substâncias no meio exterior, gerando pequenas moléculas que podem atravessar a malha da parede fúngica e assim serem absorvidas. Em função dessa característica você pode compreender por que os fungos se diferenciam dos outros *Protozoa*, uma vez que estes se alimentam por fagocitose. Quando em condições adversas, os fungos filamentosos evoluem para a forma de esporo, que é uma forma de reprodução e de resistência às condições ambientais adversas.

As unidades fundamentais da estrutura dos fungos filamentosos são as hifas, que são as células arranjadas sob a forma de filamentos, conforme você pode observar na Figura 12.14.

### QUITINA

É um polímero de N-acetil-glicosamina, que é um derivado de açúcar.

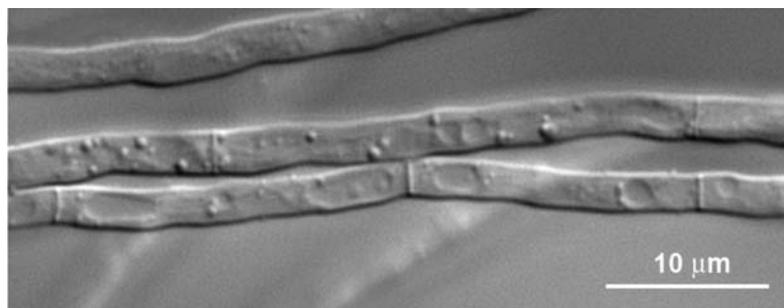
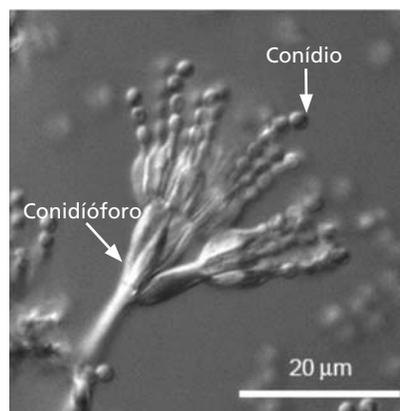


Figura 12.14: Microscopia óptica de hifas do fungo filamentoso *Penicillium*.

O conjunto das hifas forma o micélio. Neste, as hifas podem estar separadas por septos ou serem asseptadas. A estrutura do micélio pode ser linear ou ramificada. Em relação à atividade funcional, os micélios podem desempenhar atividades voltadas para nutrição, sustentação e reprodução, tomando a forma de acordo com a função exercida. Na **Figura 12.15**, você vê a ampliação de diferentes estruturas do fungo *Penicillium*. A reprodução dos fungos pode ser sexuada ou assexuada. Na sexuada cada esporo recebe um nome especial dependendo do grupo ao qual o fungo pertence (veja **Tabela 12.1**). Nos fungos filamentosos, as hifas com atividade de reprodução recebem o nome de conídios, que estão localizados em estruturas chamadas conidióforos.



**Figura 12.15:** Microscopia de contraste interferencial de um conidióforo de *Penicillium*.

A principal característica dos ascomicetos é o asco que é uma estrutura em forma de saco que contém os ascósporos, que são esporos sexuados cujas características são utilizadas para classificação pelos **MICOLOGISTAS**. Os basidiomicetos são os cogumelos comestíveis que conhecemos. Eles produzem os basidiosporos que são seus esporos sexuados. Os oomicetos são fungos típicos de ambientes aquáticos. Os zigomicetos são caracterizados pelas hifas não-septadas. Os deuteromicetos formam um grupo artificial onde são colocados todos os fungos que não têm relação com os demais e para os quais não se conhecem ainda formas de reprodução sexuada. Na **Tabela 12.1**, estão descritas de forma simplificada estas características.

#### MICOLOGISTA

Profissional especialista em fungos.

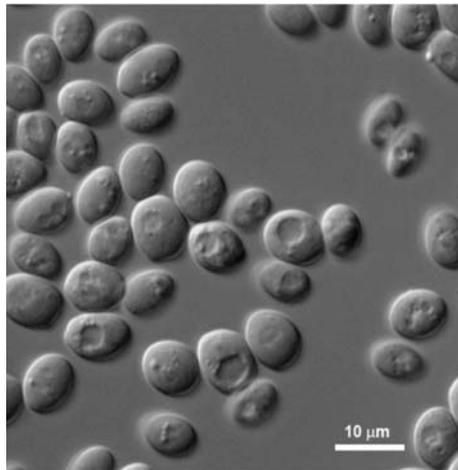
**Tabela 12.1:** Propriedades dos principais grupos de fungos filamentosos

Grupo	Nome comum	Hifas	Esporo sexual
Ascomicetos	Fungos com estruturas em forma de saco	Septadas	Ascósporo
Basidiomicetos	Cogumelos	Não-septadas	Basidiósporo
Zigomicetos	Bolores de pão	Não-septadas	Zigosporo
Oomicetos	Bolores de água	Septadas	Oósporo
Deuteromicetos	Fungos imperfeitos	Septadas	Ausente

### GÊMULA

Fenômeno observado durante o processo de reprodução das leveduras, quando uma pequena célula brota de outra, para posteriormente separar-se, dando origem a uma nova levedura.

As leveduras são fungos unicelulares. As células das leveduras são esféricas ou ovais (Figura 12.16) e, geralmente, duplicam-se por brotamento chamados **GÊMULAS**. Nesse processo, uma nova célula é formada a partir de uma protuberância na célula inicial. A posição e o número de brotos formados por uma célula são critérios utilizados na identificação das leveduras.



**Figura 12.16:** Microscopia de contraste interferencial de leveduras do gênero *Saccharomyces*.

Em virtude do seu tamanho, os detalhes das células de levedura podem ser observados ao microscópio óptico com lente objetiva de 40X (diversamente das bactérias que, por terem um tamanho menor, necessitam da utilização de lente objetiva de 100X com óleo de imersão). As leveduras são encontradas em praticamente todos os lugares, em particular naqueles onde há disponibilidade de açúcar, como as frutas e flores.

No processo de classificação das espécies de leveduras, os micologistas aplicam metodologias taxonômicas clássicas e moleculares. Na metodologia clássica, pergunta-se que atividade metabólica essas células são capazes de executar, utilizando-se para isso testes bioquímicos que informam os diferentes tipos de açúcar (glicose, lactose, sacarose, maltose) que a levedura é capaz de usar, no processo de fermentação, e a temperatura na qual melhor executam esta atividade metabólica. Nas moleculares, as tecnologias de ácido nucléico possibilitam a classificação das leveduras de acordo com o seqüenciamento de determinados genes ou a susceptibilidade à digestão por enzimas de restrição dos fragmentos de DNA correspondentes aos seus RNA ribossomais.

Um detalhe interessante dos fungos é que eles são seres que sabem aproveitar muito bem os diversos ambientes do planeta pois, embora sejam heterotróficos, promovem verdadeira obra de arte na sobrevivência ao se associarem com as algas fotossintéticas. Dessa união profícua têm origem os líquens, que são os melhores exemplos do modelo de simbiose que possibilita a sobrevivência dos associados nos mais diferentes ambientes da biosfera, e que você pode ver na **Figura 12.17**.



**Figura 12.17:** Formação de líquen num telhado, usando a telha como suporte para crescimento. Note a formação arredondada com a parte central mais escura.

## CONCLUSÃO

A existência de eucariontes unicelulares remonta há, pelo menos 2,5 bilhões de anos. Durante esse tempo, muitas estratégias de sobrevivência foram sendo concretizadas, o que nos permite observar atualmente a ampla diversidade desses seres em nosso planeta.

Em vista da grande diversidade de micróbios eucarióticos relacionados nesta aula, você pode estar maravilhado ou deveras espantado. Foram tantos nomes para gravar, tantos processos para entender e tantos fatores para meditar que, para dominá-los, é necessária a especialização em cada uma dessas áreas. Lembre-se de que não conhecemos ainda a maior parte dos micróbios existentes na Natureza, o que, com o empenho dos microbiologistas, tende a ser um campo de conhecimento em franca expansão. Mantenha sua mente aberta, pois os critérios utilizados na classificação ou identificação dos micróbios, são passíveis de modificações em função da disponibilidade de novas tecnologias. O que você viu aqui, provavelmente, aparecerá modificado no futuro.

## ATIVIDADE FINAL

a. Se você pegar um fruto do tipo tomate ou laranja, colocá-lo em um saco plástico bem fechado, deixando-o por alguns dias na temperatura ambiente ou mesmo na geladeira, o que acontecerá?

---

---

b. Quais as vantagens da cooperação celular na evolução das espécies?

---

---

### RESPOSTA COMENTADA

a. No início aparecerá um bolor algodoso de tonalidade branca e, com o passar do tempo, a região central da massa fúngica adquirirá uma tonalidade escura. Essa nova coloração é resultante da diferenciação morfológica e funcional das hifas que passam a existir sob a forma de esporos que se prestam como forma de resistência à escassez de alimento ou como estruturas de reprodução. Esta é uma situação que você pode vivenciar no seu cotidiano.

b. Mire-se nos exemplos das associações dos dinoflagelados e corais e nas associações de fungos e algas nos líquens. A convivência entre eles permite uma troca vantajosa entre os organismos fotossintéticos e os heterotróficos. Também devem ser lembrados o benefício da colaboração entre ruminantes e os micróbios da pança e ainda os fungos cultivados pelas formigas, para sua sobrevivência, como você viu na Aula 4.

## RESUMO

Os organismos unicelulares eucarióticos, quanto à obtenção de energia, podem ser autotróficos ou heterotróficos. Os autotróficos se utilizam da fotossíntese como forma de geração de matéria orgânica a partir da inorgânica, fenômeno que embasa as teias alimentares na biosfera.

As algas fazem parte dessa base por disporem das formas mais eficientes para absorver energia solar, uma vez que associaram outros pigmentos ao verde da clorofila. Modificadas na cor, elas puderam ocupar regiões mais profundas do

oceano, onde somente os raios luminosos de comprimento de onda mais curto conseguem penetrar. Embora algumas espécies de *Protozoa* tenham aprisionado em seus plastos organismos fotossintéticos, os protozoários e os fungos se caracterizam como seres heterotróficos. Nos protozoários, a heterotrofia envolve predação de outros organismos ou a ingestão de resíduos de carcaças de seres mortos. Nos fungos, a heterotrofia se faz pela digestão extracelular de material orgânico inanimado.

Algumas espécies de protozoários e fungos estão associadas com infecções em animais ou plantas e, nessa condição, são consideradas parasitas. Entretanto, é notória a participação dos fungos e protozoários na cadeia alimentar na biosfera, ao promoverem a degradação da matéria morta, transformando-a em biomassa para organismos de tamanho maior, funcionando como elo da cadeia alimentar dos demais seres vivos.

Dentre os fenômenos biológicos que envolvem a participação de elementos do reino *Eukaria*, no ambiente marinho, vale ressaltar a participação de alguns dinoflagelados responsáveis pelo atrativo brilho na água do mar, quando esta é agitada durante a noite e as marés, vermelhas ou verdes.

Em matéria de sobrevivência, deve-se destacar a profícua associação existente entre fungos e algas, sob a forma de líquens, que lhes confere versatilidade para suportar as adversidades de diferentes condições ambientais.

## INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

Na próxima aula, você vai estudar várias aplicações práticas dos micróbios em nossas atividades humanas, que vão desde as mais antigas, como a fabricação de vinhos, até aplicações microbiológicas modernas. Temos certeza de que você vai gostar muito do que está por vir.

### Sugestão de leitura

[http://www.phoenix.org.br/fosseis\\_sergipe.htm](http://www.phoenix.org.br/fosseis_sergipe.htm)



# Microbiologia industrial

AULA

# 13

## Meta da aula

Mostrar que os micróbios podem ser domados e, sob esta condição, produzem substâncias que beneficiam a humanidade e garantem a sustentação econômica de empresas e indústrias.

## objetivos

Esperamos que, após o estudo do conteúdo desta aula, você seja capaz de:

- esquematizar as etapas do processo industrial de fermentação;
- descrever as reações químicas que regem alguns processos industriais para obtenção de produtos de origem microbiana;
- calcular a quantidade de reagentes envolvidos na fermentação etanólica por leveduras.

## Pré-requisitos

Para o entendimento desta aula, é necessário que você tenha noções de Química (Orgânica e Inorgânica) do Ensino Médio. Além disso, você vai precisar rever conceitos apresentados na Aula 4 (produtos microbianos), na Aula 5 (composição da parede microbiana) e na Aula 6 (exigências nutricionais para o crescimento populacional microbiano) da nossa disciplina. Também será importante você rever o ciclo de Krebs, apresentado na Aula 14 do Volume II de Bioquímica II.

## INTRODUÇÃO

### **BIOFÁRMACOS**

Moléculas com atividade farmacológica, tais como insulina e interferon, produzidas por micróbios ou células animais geneticamente modificados.

### **BIORREATOR OU FERMENTADOR**

Equipamento no qual é realizada a fermentação e que deve ser capaz de manter as condições ambientais ideais para o crescimento do micróbio e a obtenção do produto desejado.

O pensamento do microbiologista industrial está voltado para grandes quantidades, isto é, para proporções gigantescas. Os micróbios escravizados desenvolvem um trabalho ininterrupto e, seja dia ou noite, dia útil ou feriado, têm de garantir a produção.

Para você ter uma idéia, pelo menos no que diz respeito à cerveja, a produção mundial totalizou, em 2004, 154,75 milhões de quilolitros, tendo o Brasil ocupado o quarto lugar nesse quadro. Contudo, em 2005, nosso país superou a Alemanha, colocando-se em terceiro lugar. Portanto, agora só falta passarmos os Estados Unidos, que ocupam a segunda posição, e a China, primeira colocada.

Você já estudou nas outras aulas os princípios que regem as metodologias para cultivo de micróbios, assim como muitos dos produtos metabólicos sintetizados por eles. Alguns desses compostos são de grande utilidade e valor comercial, tais como alguns tipos de enzimas, ou substâncias como etanol, ácidos orgânicos, antibióticos e **BIOFÁRMACOS**. Nesta aula, você vai aprender como os micróbios e os produtos oriundos de seu metabolismo podem ser utilizados industrialmente. Por meio dela, você vai saber como é feita a escolha do micróbio e do meio de cultura, o tipo de **BIORREATOR** a ser utilizado e o processo de recuperação do produto que se deseja obter. Em contrapartida, sabe-se que os micróbios, além de serem os agentes produtores, podem também atuar como contaminantes. Por isso, vamos ver também as práticas utilizadas na indústria para evitar a contaminação. Além disso, você vai conhecer alguns dos principais produtos microbianos obtidos industrialmente e seu processo de produção, como, por exemplo, o de obtenção de etanol.

## **ASPECTOS IMPORTANTES EM PROCESSOS FERMENTATIVOS INDUSTRIAIS**

Os procedimentos industriais se diferenciam dos trabalhos efetuados em laboratórios de pesquisa porque são realizados em grande escala e, devido a isso, a operação com micróbios torna-se mais complexa. As operações em larga escala devem incluir métodos para evitar a contaminação e, também, a utilização de biorreatores cuidadosamente desenhados para manter as condições ideais, tanto para o crescimento populacional microbiano quanto para a produção. Dessa forma, alguns aspectos tornam-se de suma importância, como, por exemplo, o agente da fermentação, a quantidade a ser inoculada, o meio de cultivo, os métodos de esterilização e descontaminação, o tipo de biorreator, o sistema de produção e a recuperação do produto.

## Agente da fermentação

Os micróbios mais utilizados industrialmente são as bactérias, as leveduras e os fungos filamentosos.

A primeira etapa de um processo industrial consiste em selecionar o tipo de micróbio que possui a informação genética e o **PROTEOMA** necessários à síntese do produto desejado.

Após a etapa de seleção do tipo microbiano a ser usado na **FERMENTAÇÃO**, deve-se considerar, ainda, alguns aspectos, tais como: (a) o tempo de geração dos micróbios; (b) as exigências nutricionais, ou seja, que tipos de nutrientes devem ser adicionados ao meio de cultura para permitir a expansão populacional do micróbio “escravizado”; (c) a manutenção do estado fisiológico dos micróbios durante a fermentação; (d) a utilização de micróbios inócuos para os seres humanos; (e) a facilidade de cultivo dos micróbios em larga escala; e (f) a viabilidade econômica do processo.

Logo após a escolha do agente da fermentação, uma etapa importante é a conservação dos micróbios. Com este propósito, a amostra microbiana deve ser mantida congelada. Para manter as células íntegras durante o congelamento, elas devem ser adicionadas de **GLICEROL**. Esse tipo de conservação faz-se necessário pois, ao longo de inúmeras fermentações, podem acontecer mutações espontâneas, que alteram as características da variante genética selecionada.

### PROTEOMA

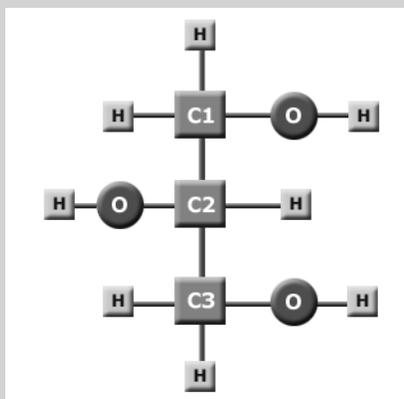
Totalidade das proteínas sintetizadas por uma célula ou organismo em determinado tempo e sob condições ambientes determinadas.

### FERMENTAÇÃO

Termo usado em Biotecnologia para qualquer processo onde ocorra transformação de compostos orgânicos em produto de interesse econômico, por meio de agentes microbianos.

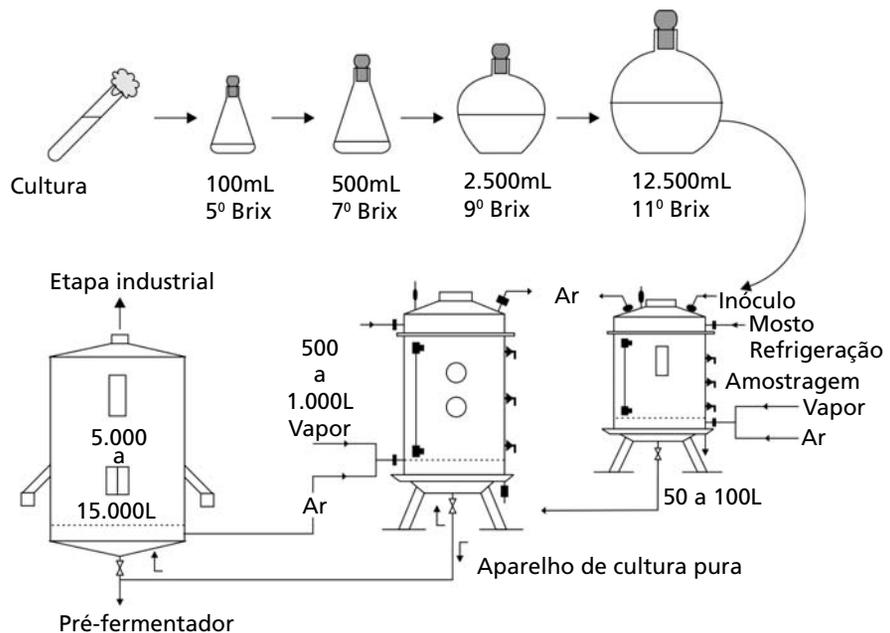
### GLICEROL OU GLICERINA

Poliálcool com três átomos de carbono, utilizado comumente como crioprotetor em técnicas de congelamento de células vivas. Só é possível manter a viabilidade das células congeladas quando se adiciona um agente crioprotetor à suspensão celular. A suspensão de glicerol a 25%, em pH alcalino, absorve moléculas de água do interior das células, e com isto a célula passa a ter o seu conteúdo hídrico reduzido. A água, expandida pelo processo de congelamento, é a responsável pela morte das células.



## Inóculo

Outro aspecto importante é a obtenção do inóculo (a quantidade de micróbios a ser inoculada), em larga escala cujo preparo deve ser feito de modo crescente, partindo de ampolas onde os micróbios foram conservados para frascos agitados em pré-fermentadores, até gerar biomassa suficiente para inocular o fermentador principal, como você pode ver na **Figura 13.1**. É importante saber que o volume de inóculo deve estar entre 2 e 10% do volume total de meio.



**Figura 13.1:** Esquema de preparo de inóculo.

## Meio de cultivo

Os meios de cultura utilizados na indústria, além de conterem os substratos necessários para o desenvolvimento dos micróbios e a produção da molécula de interesse, devem ter baixo custo. A grande maioria dos micróbios utilizados na indústria é quimioeterotrófica, utilizando nutrientes orgânicos simultaneamente como fonte de carbono e energia. Os nutrientes essenciais para o crescimento do micróbio incluem fontes de carbono, nitrogênio e fósforo, e os oligoelementos (elementos-traço). Em razão de seu baixo custo, uma alternativa interessante e muito usada é a utilização de matérias-primas de origem vegetal como substrato.

Estas matérias-primas podem ser do tipo sacaríneas (caldo de cana ou melão, sucos de frutas), amiláceas (milho, arroz, cevada, mandioca), ligno-celulósicas (resíduos agroindustriais como bagaço de cana, palha de arroz, sabugo de milho) e protéicas (fubá, farinha de soja). Estes materiais podem ser compostos de carboidratos complexos. Neste caso, necessitam de um pré-tratamento para converter estas substâncias complexas em açúcares simples de fácil utilização pelos micróbios, como, por exemplo, materiais ricos em amido e ligno-celulósicos. Os materiais de origem vegetal possuem a maioria dos nutrientes necessários ao desenvolvimento dos micróbios em quantidades adequadas. Em alguns casos, pode ser necessário a adição de alguns sais inorgânicos, assim como de elementos-traços (Zn e Co, dentre outros), fatores de crescimento (aminoácidos), vitaminas e indutores (adição de colágeno para produção de colagenase) em concentrações específicas. Neste último caso, procura-se obter enzimas que os micróbios só sintetizam quando induzidos, ou seja, quando o substrato está no meio de cultura.

### **Esterilização e descontaminação**

Após a preparação, os meios de cultura devem ser esterilizados ou descontaminados, assim como os insumos e os equipamentos a serem utilizados antes do início do processo fermentativo. O desenvolvimento de qualquer outro tipo de micróbio, diferentemente do agente da fermentação, resulta em prejuízos econômicos, uma vez que passa a haver uma competição pelos nutrientes, causando redução na produtividade e desenvolvimento de outras substâncias. Pode, inclusive, haver degradação do produto esperado. Para a esterilização do meio de cultura usa-se, com frequência, o vapor úmido ou a filtração (para meios que possuem em sua composição substâncias termolábeis). Para os equipamentos, podem ser utilizados métodos físicos, empregando-se calor seco ou úmido e radiações ultravioleta ou ionizantes. Há ainda a possibilidade do emprego de métodos químicos utilizando-se detergentes, ácidos, álcoois, gases e vapores esterilizantes. Para assegurar a esterilidade do ambiente, o ar que circula no setor de produção é filtrado utilizando-se **FILTROS EPA**.

#### **FILTROS EPA**

Filtros esterilizantes utilizados em sistemas de ar. São fabricados com 100% de material sintético para não liberar partículas. Eles têm incorporado às suas fibras um agente antimicrobiano, aprovado pela Agência de Proteção Ambiental Norte-Americana (EPA é a sigla correspondente a Environmental Protection Agency).

A descontaminação consiste na utilização de agentes químicos e físicos germicidas objetivando a redução da infecciosidade potencial de um material, enquanto a esterilização consiste na destruição, inativação ou remoção de toda forma de vida microbiana.

## Tipos de biorreatores

A fermentação industrial é realizada em fermentadores ou biorreatores. O projeto e construção do biorreator depende principalmente das características fisiológicas e bioquímicas do micróbio, tais como morfologia, exigências de oxigênio, formas de reprodução e requerimentos nutricionais, temperatura e pH ótimos. Os biorreatores para larga escala são geralmente cilindros fechados contendo várias válvulas para entrada e saída de material, sem contudo permitir a manutenção da esterilidade do processo.

Durante o processo fermentativo, os parâmetros físicos e químicos devem ser mantidos para garantir o curso adequado do processo. O ajuste desses parâmetros é extremamente importante para maximizar a eficiência do processo produtivo. Os parâmetros físicos da fermentação mais importantes são agitação, temperatura e pH. Já os químicos envolvem a concentração dos substratos.

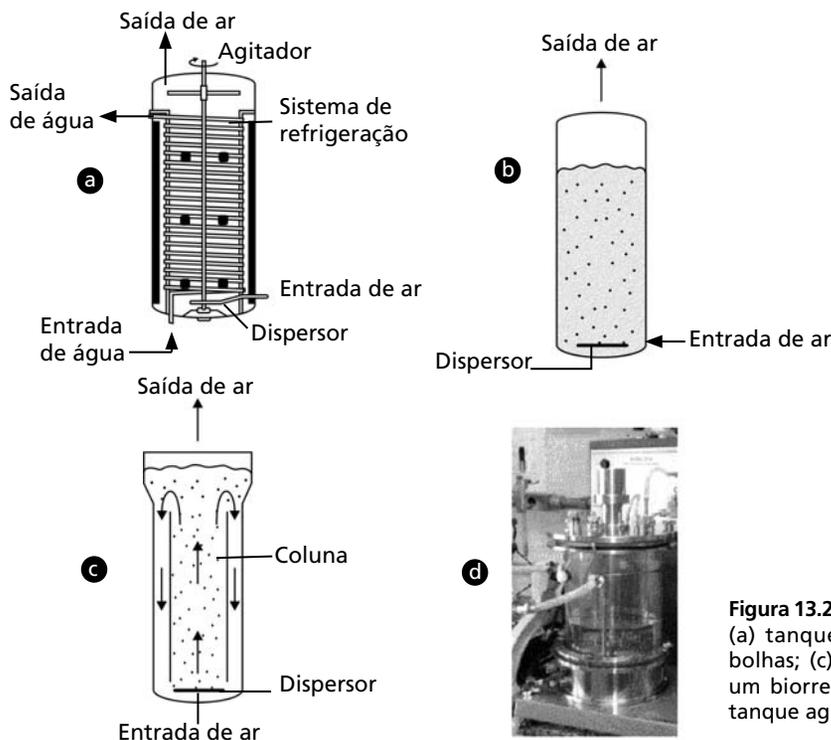
A grande maioria dos micróbios utilizados na indústria requer oxigênio para seu crescimento populacional, e, como este não se solubiliza bem na água, sua disponibilidade é um dos principais fatores limitantes ao desenvolvimento microbiano em larga escala. Devido a isso, os biorreatores devem ser desenhados e construídos de forma a permitir a aeração da cultura ao longo do processo da fermentação. Quando é utilizada a aeração forçada, há a formação de microbolhas de ar, das quais os micróbios absorvem o oxigênio.

Os micróbios suportam uma estreita faixa de pH na qual seu desenvolvimento é favorecido. Porém, durante a fermentação, eles produzem compostos oriundos do seu metabolismo que, liberados no meio, causam alterações no pH deste. Desta forma, o pH deve ser corrigido para a faixa desejada, adicionando-se um ácido ou uma base.

A temperatura é outro parâmetro essencial para o êxito da fermentação. Quando os micróbios estão sendo cultivados em uma temperatura inferior à adequada, passam a apresentar uma taxa de

crescimento mais lenta, prejudicando a produção. Da mesma forma, quando a temperatura de cultivo está acima da ideal, além do retardo do crescimento, pode ocorrer inativação das enzimas que executam as transformações bioquímicas desejadas, importantes para o metabolismo. Durante a fermentação, o crescimento microbiano promove a formação de calor, sendo necessário o controle. Por isso, todos os biorreatores devem estar acoplados a um sistema que assegure a manutenção da temperatura.

Há uma enorme variedade de tipos de biorreatores industriais. O tipo mais comum é o biorreator de tanque agitado, onde o meio é homogeneizado pelo uso de um sistema interno de pás com agitação mecânica. O biorreator de coluna de bolhas caracteriza-se pela injeção de ar pelo fundo do reator com força para criar uma agitação do meio, suficiente para aerar o sistema. Outro biorreator bastante utilizado é o *airlift*, onde o ar é injetado por uma coluna central, proporcionando uma agitação circular do meio de cultura. Os biorreatores de leito fixo são preenchidos com uma matriz sólida que segura os micróbios sem agitação. Na **Figura 13.2** estão representados os esquemas dos principais tipos de biorreatores:



**Figura 13.2:** Esquema de biorreatores: (a) tanque agitado; (b) coluna de bolhas; (c) *airlift*; (d) fotografia de um biorreator de bancada do tipo tanque agitado.

## Sistema de fermentação

Os processos fermentativos podem ser descontínuos (que no jargão industrial denominam-se batelada) ou contínuos. A escolha do modo de operação vai depender dos custos do processo e da recuperação do produto.

O sistema descontínuo é o processo no qual os nutrientes necessários à fermentação são adicionados, gradualmente, à medida que a população microbiana os exige. Por isso o biorreator opera em etapas (liga-desliga). Este sistema é o mais simples, daí ser o de menor custo de investimento. Embora seja barato, é um processo de pouca eficiência, pois gasta-se muito tempo com o serviço de adição e retirada dos ingredientes da fermentação. Sem contar o risco de contaminação, em decorrência das várias vezes que o sistema é aberto. Neste tipo de processo, observam-se as fases típicas do crescimento populacional microbiano: fase lag, fase exponencial e fase estacionária. O avanço das técnicas de instrumentação e controle de processos permitiu a implementação do sistema descontínuo alimentado. Nesses processos os substratos são adicionados ao longo da fermentação, permitindo maiores rendimentos.

Os sistemas contínuos são processos em que a adição de nutrientes e a recuperação do produto são realizadas continuamente, e a fermentação é conduzida por um longo período de tempo. Este modelo de processo, apesar de exigir maior atenção do operador, tem a vantagem da maior eficiência.

## Recuperação do produto

Ao término da fermentação os micróbios são separados do meio líquido. Essa separação geralmente é realizada por um processo de filtração ou de centrifugação. Se o produto produzido for do tipo que a célula sintetiza e acumula no citoplasma, é necessário ser feito o rompimento dessas células para depois se recuperar o produto a partir do fluido residual. Se for um produto secretado, este está concentrado no sobrenadante. Os produtos de interesse são freqüentemente concentrados antes de se iniciar as etapas de purificação. Um dos métodos mais utilizados para concentração do produto é a precipitação. Posteriormente, quando se busca um grau de pureza maior, são utilizados métodos cromatográficos. O grau de purificação do produto obtido vai depender principalmente de sua aplicação. Produtos voltados para indústria de

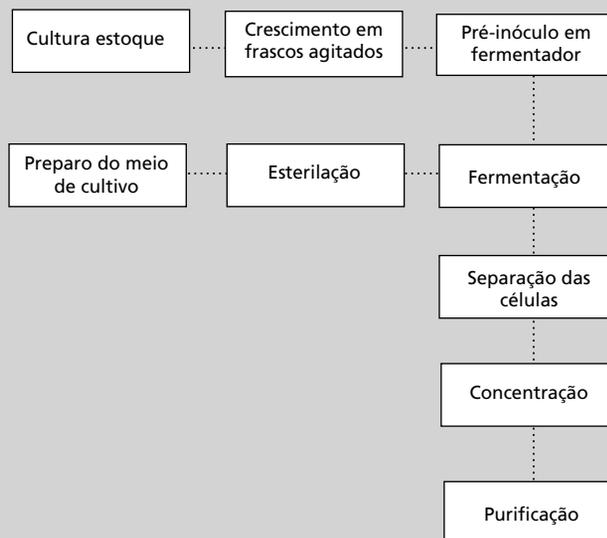
alimentos ou farmacêutica deverão ter um grau de pureza bastante superior ao, por exemplo, de enzimas produzidas para tratamento de efluentes industriais.



### ATIVIDADE

1. Com base no estudo dos aspectos importantes de uma fermentação, construa um esquema de produção contendo as principais etapas de um processo fermentativo industrial.

### RESPOSTA COMENTADA



*Se você montou esta seqüência, parabéns! Isso significa que você percebeu as etapas envolvidas no processo de fermentação. Se não acertou, não se desespere. Leia novamente o conteúdo apresentado até aqui com bastante atenção e você ainda terá uma grande chance de conseguir um contrato numa grande indústria.*

## PRINCIPAIS PRODUTOS

Agora vamos estudar os principais produtos obtidos por meio de processos fermentativos envolvendo diversos micróbios. Existem diversos produtos de origem microbiana que possuem uma aplicação industrial, porém você há de convir que no tempo programado para a nossa aula não é possível descrever detalhadamente todos estes processos. Desta forma, daremos ênfase aos produtos comercializados e falaremos mais detalhadamente sobre alguns deles. Na **Tabela 13.1** estão apresentados vários produtos disponíveis comercialmente:

**Tabela 13.1:** Exemplos de alguns produtos biotecnológicos disponíveis comercialmente

Produto	Organismo produtor	Aplicações
Etanol	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Bebida, combustível
Ácido cítrico	<i>Aspergillus niger</i>	Aplicações nas indústrias de alimentos, farmacêuticas e de cosméticos
Acetona e butanol	<i>Clostridium acetobutyricum</i>	Solventes
Ácido glutâmico	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Realce de sabor (glutamato)
Lisina	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Aditivo em alimentos
Polissacarídeos	<i>Xanthomonas sp.</i>	Aplicação de goma xantana pela indústria de alimentos. Recuperação de petróleo
Enzimas	Vários	Alimentos, detergentes, Biologia Molecular
Antibióticos	Vários	Indústria farmacêutica
Biofármacos	Micróbios e principalmente células animais	Indústria farmacêutica

### Produção de etanol

O etanol produzido é utilizado principalmente como combustível ou como bebida e pode ser obtido por fermentação ou por processo de síntese. A via fermentativa é a forma mais utilizada para sua obtenção, pois além de ser mais econômica é a única maneira de produzir etanol para bebidas, uma vez que a legislação brasileira proíbe a utilização de etanol de origem sintética para essa finalidade. Outro fator que torna a via fermentativa mais econômica é o fato de poder ser utilizada qualquer matéria-prima de origem vegetal que contenha carboidrato para a confecção do meio de cultura para as leveduras.

A síntese de etanol se dá a partir de hidrocarbonetos não-saturados (como eteno e etino), e de gases de petróleo. O etanol sintético é utilizado na produção de bebidas em países nos quais a legislação permite.

A produção de etanol de origem microbiana é realizada em três etapas: o preparo da matéria-prima; a fermentação; e a **DESTILAÇÃO**. O preparo da matéria-prima consiste em um tratamento desta para extração dos açúcares fermentáveis. Este tratamento depende do tipo de matéria-prima. Algumas não necessitam dessa etapa, pois contêm monossacarídeos em sua composição e são diretamente fermentadas. Como exemplo temos os sucos de frutas. Outras contêm dissacarídeos e precisam que estes sejam hidrolisados antes da fermentação como, por exemplo, a sacarose do caldo de cana. Esta hidrólise gera glicose e frutose. O caldo de cana é a matéria-prima mais utilizada para a produção de etanol no Brasil, enquanto na Europa se utiliza a beterraba.

A fermentação é um processo comum a todos os substratos açucarados, cujo princípio é a transformação dos açúcares em etanol e dióxido de carbono. As leveduras são os micróbios indicados para a produção de etanol, sendo as da espécie *Saccharomyces cerevisiae* as mais utilizadas. Dentro dessa espécie de levedura são reconhecidas diferentes linhagens, de acordo com o tipo de extrato vegetal utilizado. Assim, há aquelas que se prestam para a produção de vinhos e as de cervejas. No biodigestor, a produção de etanol pode ocorrer por processos de alimentação constante ou em batelada (descontínua).

A destilação é uma forma de concentrar o etanol. A operação consiste em separar as células microbianas do caldo fermentado e submeter este último a um processo de aquecimento. O álcool evapora à temperatura de 78,5°C. Em seguida, os vapores são resfriados, e o álcool volta para o estado líquido, sendo assim armazenado para nova destilação, que visa a aumentar a concentração do teor alcoólico e purificá-lo.

### Produção de ácido cítrico

O ácido cítrico possui várias aplicações industriais. É utilizado como aditivo na fabricação de refrigerantes, sobremesas, conservas de frutas, geléias, doces e vinhos, funcionando como agente acidulante e antioxidante. Na indústria farmacêutica, é utilizado como, anticoagulante.

#### DESTILAÇÃO

Processo de obtenção de etanol através da separação de líquidos por evaporação com condensação posterior.

#### FRUTAS CÍTRICAS

Frutas suculentas de árvores da família Citrus, representadas por limão, laranja e similares. Quanto mais azeda maior o seu teor em ácido cítrico. O suco puro de limão tem, em média, uma concentração de 5 a 8% desse ácido.

Também é empregado na fabricação de efervescentes, e na indústria de cosméticos é utilizado para ajustar o pH de loções adstringentes.

Antes do desenvolvimento de técnicas fermentativas para a produção do ácido cítrico, este era obtido a partir do suco de **FRUTAS CÍTRICAS** e tinha um custo bastante elevado. Hoje, quase todo ácido cítrico produzido no mundo é obtido por métodos fermentativos. Essa obtenção do ácido cítrico pode ser realizada utilizando-se três processos: o processo koji, o processo de fermentação em superfície e o processo de fermentação submersa. O agente da fermentação nos três processos é uma cepa do fungo da espécie *Aspergillus niger*. Vamos agora apresentar alguns detalhes desses três processos.

#### Fermentação pelo método *koji*

Na fermentação pelo processo *koji* (bolor), o suprimento nutricional fornecido aos fungos está em estado sólido (farofa), sendo geralmente constituído por farelo de trigo ou fécula de batata-doce. Os biorreatores usados nesse tipo de fermentação são do tipo bandeja, sobre a qual é distribuída a matéria a ser fermentada. Antes da inoculação dos fungos, o farelo, ou a fécula, deve ser hidratado, com uma solução tampão de pH entre 4,0 e 5,0. Essa hidratação deve ser feita até o material adquirir o aspecto de uma farofa úmida. Após um período de cinco a oito dias de incubação, o desenvolvimento dos fungos torna a massa embolorada. O aproveitamento da matéria amilácea pelos fungos é acompanhado da liberação, de ácido cítrico, que vai se acumulando na cultura à medida que esta se desenvolve. Quando o processo de fermentação está concluído, a massa de fungos obtida – também conhecida pela denominação de *koji* – é recolhida e adicionada de água, para se extrair o ácido cítrico.

A fermentação no estado sólido ou pelo método *koji* é um processo fermentativo no qual são utilizados materiais de origem vegetal moídos e levemente umedecidos como meio de cultivo. Esse processo tem como característica evitar o encharcamento da área onde a fermentação está sendo efetuada.

Para a extração do ácido cítrico, a massa liquefeita é filtrada para a separação dos micélios. Posteriormente, é feita a neutralização do citrato presente no filtrado por meio da adição de hidróxido de cálcio. Em seguida, o citrato de cálcio formado é filtrado e transferido para um tanque onde é adicionado ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ). Nesta etapa são gerados o ácido cítrico e o precipitado de sulfato de cálcio. O sobrenadante é removido e misturado com carvão ativado, que absorve o excedente de  $H_2SO_4$ . A seguir, a solução final de ácido cítrico é tratada para a remoção dos elementos minerais oriundos do carvão e, finalmente, concentrada por evaporação. Quando seco, o ácido cítrico se apresenta sob a forma de cristais.

### **Fermentação em superfície**

A fermentação em superfície é um processo em que o material amiláceo é encharcado até ficar submerso por uma fina camada de água. O meio de cultura a ser inoculado é distribuído em bandejas rasas, sendo então adicionados os fungos. Durante a fermentação as bandejas recebem ar em sua superfície. Após o término da fermentação o líquido é recolhido, e dele é recuperado o ácido cítrico para ser concentrado e purificado, como descrito no processo *koji*.

### **Fermentação submersa**

A fermentação submersa possui algumas vantagens sobre a fermentação em superfície, em termos de custo de investimento e operação para produção de ácido cítrico. Neste processo são utilizados fermentadores onde é feita a aeração de forma permanente, sem necessidade de agitação.



**ATIVIDADE**

2. Você viu que o ácido cítrico pode ser extraído de culturas microbianas. O processo de extração envolve princípios de Química Orgânica e Inorgânica. Pergunta-se:

a. Qual o processo metabólico que gera ácido cítrico e que fórmula estrutural tem essa molécula?

---



---

b. Calcule quanto de hidróxido de cálcio (cal hidratada) é consumido por uma indústria que produz mensalmente 2,112 toneladas de ácido cítrico. Considere no seu cálculo uma reação com 100% de eficiência. Para facilitar sua tarefa, os pesos moleculares do ácido cítrico ( $C_6H_8O_7$ ) e do hidróxido de cálcio ( $Ca(OH)_2$ ) são, respectivamente, 192 e 74.

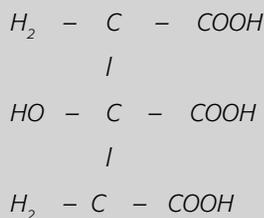
---



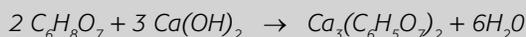
---

**RESPOSTA COMENTADA**

Se você se lembrou do ciclo de Krebs aprendido em Bioquímica II, parabéns! Munido desse conhecimento, você deve ter respondido sem titubear, que a reação do íon oxalacetato + acetil coenzima A gera o citrato, cuja fórmula molecular é  $C_6H_8O_7$ , e a estrutural é:



Processos industriais são repetições em larga escala daquilo que você aprendeu na escola. Assim, você deve estar lembrado que para obter o ácido cítrico a partir da fermentação, precisa de grande quantidade de outros produtos, mas o equilíbrio da reação é bem simples: ácido cítrico + hidróxido de cálcio → citrato de cálcio + água.



Para cada 384g de ácido cítrico, gasta-se 222g de hidróxido de cálcio. Portanto, para neutralizar 2,112t de ácido cítrico são necessárias 1,221t de hidróxido de cálcio.

## Produção de acetona e butanol

Tanto a acetona quanto o butanol são produtos usualmente empregados como solventes. Você pode observar tal utilização tanto na indústria de tintas como no cotidiano (para remoção do esmalte de unhas).

Muitas espécies de bactérias apresentam metabolismo capaz de produzir acetona ou butanol, porém, nos processos industriais, a espécie microbiana utilizada é o *Clostridium acetobutylicum*, cujo nome é bem representativo do potencial dessas bactérias, pois fermentando a glicose são capazes de produzir butanol e ainda, em menor proporção, outros compostos, tais como etanol, ácido acético, dióxido de carbono e hidrogênio.

Este processo fermentativo é efetuado em duas etapas. Na primeira, que tem como finalidade promover a expansão populacional do *C. acetobutylicum*, utiliza-se como fonte de glicose no meio de cultura produtos amiláceos ou celulosídicos, ou aqueles ricos em sacarose (melaço e caldo de cana). Esse cultivo é executado em condições anaeróbicas, pois o oxigênio molecular é letal para as bactérias do gênero *Clostridium* (catalase negativos). Na segunda etapa do processo, a massa celular obtida depois de centrifugada é transferida para outro biorreator, onde os nutrientes disponíveis estão em concentração reduzida, o que favorece a ocorrência do desvio metabólico bacteriano e dá início à síntese do butanol sem haver multiplicação celular.

A recuperação dos produtos dessa fermentação é realizada por meio de processos de destilação fracionada, para separação de cada um dos produtos desejados (acetona → ponto de ebulição 56,5°C; etanol → 78,5°C; butanol → 92°C).

## Produção de antibióticos

Os antibióticos são produtos elaborados por micróbios, que se prestam para inibir o crescimento de outros micróbios. Os antibióticos são utilizados como medicamentos para auxiliar o corpo (humano ou animal), a combater infecções microbianas instaladas. Plantas apresentando infecções bacterianas também podem ser tratadas com aplicação de antibióticos. Nesse caso, a pulverização também pode ser feita em associação com outros agentes antimicrobianos. Porém, os antibióticos possuem outras aplicações, tais como barreiras seletivas contra micróbios utilizados em Biologia Molecular.

A produção de antibióticos por via fermentativa tem sido obtida graças a alguns micróbios da classe das bactérias, dos fungos e dos

**ACTINOMICETOS.**

### ACTINOMICETOS

Denominação dada a seres procariontes que crescem formando estruturas filamentosas parecendo fungos ou agregados cerosóides (com aspecto de cera).

Em função de suas características, durante muito tempo os actinomicetos estiveram órfãos, pois não eram estudados pelos micologistas, que os consideravam bactérias, nem pelos bacteriologistas, que os tinham como fungos. Foi graças ao bioquímico ucraniano naturalizado americano Selman A. Waksman (1888-1973), especialista em Microbiologia do solo, que eles passaram a ter identidade própria. Waksman criou o termo em 1941 para denominar esse grupo de micróbios e foi agraciado com o prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia de 1952, pela descoberta, em 1943, da estreptomicina, usada no tratamento da tuberculose e produzida pelos *Streptomyces griseus*, um tipo de actinomiceto.



Selman Waksman

Os antibióticos podem ser obtidos a partir de preparações microbianas cultivadas em fermentadores. Depois de extraídas e purificadas, as moléculas de antibióticos podem ser alteradas quimicamente, dando origem aos chamados antibióticos semi-sintéticos, embora também seja possível obter alguns tipos de antibióticos exclusivamente por síntese química. Dessa forma, os antibióticos podem ser classificados como sintéticos, semi-sintéticos e naturais.

Embora as moléculas de antibióticos tenham sido caracterizadas como produtos antimicrobianos, o avanço tecnológico na Química já permitiu a síntese de alguns daqueles de estruturas mais simples, como o cloranfenicol, usado largamente como aditivo da alimentação animal. A ampla utilização desse tipo de antibiótico em crianças, na década de 1960, resultou em um número elevado de casos de anemia aplástica e coloração amarelada nos dentes. Isso devido à ação lesiva dessa molécula sobre as mitocôndrias do tecido da medula e do segmento germinal dos elementos da segunda dentição, respectivamente.

### SERENDIPISMO

Termo derivado da palavra inglesa *serendipity*, que se refere ao dom que têm algumas pessoas de fazer descobertas felizes, por acaso.

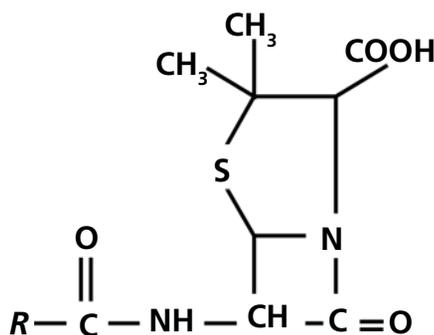
A história da descoberta dos antibióticos começou com a penicilina, fruto de uma situação clássica de **SERENDIPISMO**. O autor da façanha, o médico inglês Alexander Fleming (1881-1955), relatou o efeito inibitório de uma cultura de fungos do gênero *Penicillium* (aqueles bolores esverdeados que se desenvolvem em cima de frutas e queijos,

mesmo mantidos em geladeira), sobre o crescimento de bactérias do gênero *Staphylococcus*, numa clássica demonstração de que, em ciência, descobrir significa ver o que todos viram e pensar no que ninguém pensou.

A produção industrial de penicilina constituiu uma nova fase na qualidade de vida da humanidade e uma das circunstâncias que elevaram o prestígio do saber microbiano, tanto na comunidade científica quanto na população leiga.

O processo de produção e a análise química do produto mostram que a penicilina é uma molécula que estruturalmente se caracteriza pelo anel  $\beta$ -lactâmico, como você pode ver na **Figura 13.3**, que parece a armação do desenho de uma casa. Esta estrutura é análoga aos componentes da mureína, constituintes da parede celular bacteriana, que você viu na nossa Aula 5. Por serem análogas, as enzimas bacterianas envolvidas na construção da parede celular confundem uma molécula com a outra, porém a incorporação da molécula de penicilina na parede celular provoca o bloqueio da síntese da parede, com conseqüente parada do crescimento celular e posterior morte em razão do enfraquecimento da rigidez da estrutura da parede, levando a célula a explodir, da mesma forma que uma câmara de ar explode quando o pneu é rasgado.

**Figura 13.3:** Representação da molécula da penicilina. Note a estrutura cíclica do anel  $\beta$ -lactâmico, que parece o desenho de uma casa.



No cotidiano, quem nunca foi tratado com antibióticos? Quantos gramas ou miligramas você tomou? Quantos são os seres humanos na superfície do planeta? Considerando essas questões, você pode imaginar o quanto de antibióticos é produzido para atender à humanidade! São antibióticos com toxicidade seletiva ou de toxicidade relativa. Os únicos que apresentam toxicidade seletiva, ou seja, efetivos apenas para as células bacterianas, são as penicilinas ou qualquer outro que apresente na estrutura química o anel  $\beta$ -lactâmico, como é o caso das **CEFALOSPORINAS**, que são produtos das culturas de fungos dos gêneros *Acremonium*, *Emericellopsis* e *Paecilomyces*.

#### CEFALOSPORINAS

Qualquer dos antibióticos semelhantes à penicilina, produzidos por fungos do gênero *Cephalosporium* e que atuam inibindo a síntese da parede celular de bactérias.

Os antibióticos de toxicidade relativa são aqueles que atuam em metabolismos específicos de células procarióticas tais como inibição de síntese de proteínas, pois os ribossomos de procariontes diferem daqueles dos eucariontes (você se lembra da Aula 3?). Entretanto, você deve estar lembrado, também, que as mitocôndrias são organelas de eucariontes que têm estruturas semelhantes às das bactérias. Por isso, antibióticos que interferem no processo de síntese protéica bacteriana também intoxicam as mitocôndrias. O dano mitocondrial resulta em distúrbios no metabolismo eucarionte com conseqüente prejuízo dos tecidos nos quais as mitocôndrias são mais atingidas. Um exemplo clássico dessa situação é o **EFEITO OTOTÓXICO** provocado pela estreptomicina, tipo de antibiótico receitado contra tuberculose.

#### EFEITO OTOTÓXICO

Reação tóxica de antibióticos sobre as células do nervo auditivo, que pode afetar a audição de forma permanente. Você já ouviu a expressão “ouvido de tuberculoso”, referindo-se a alguém que ouve muito bem? Na verdade, o tuberculoso ouvia bem enquanto estava doente, mas após o tratamento com estreptomicina teve sua acuidade auditiva reduzida.

O modelo de produção industrial de antibióticos é adaptado aos diferentes tipos microbianos adotados pelas indústrias, mas não poderíamos deixar de trazer até você alguns detalhes técnicos do processo de obtenção em larga escala da penicilina.

O tipo de fungo cultivado em fermentadores para produção de penicilina é da espécie *Penicillium chrysogenum*. Porém, muitas pesquisas têm sido feitas com o intuito de selecionar cepas desta espécie de fungo, com maior potencial de produtividade.

A produção industrial de penicilina é efetuada em fermentadores que são agitados e aerados, de maneira a disponibilizar os nutrientes de forma homogênea. O tipo de fermentação neste caso é por batelada, pois o processo é interrompido periodicamente para reposição dos nutrientes, à medida que estes se esgotam. A matéria-prima utilizada para cultivo do *P. chrysogenum* geralmente consiste de água da lavagem dos grãos de milho, que é rica em compostos nitrogenados e, como fonte de carbono, a lactose residual do processo de produção de queijo.

No leite, 50% da matéria sólida é lactose. Quando usado para a produção de queijo, parte da lactose é fermentada pelas bactérias (lactobacilos) para produção de ácido láctico, responsável pela acidez do produto até pH 5,0. Como resultado dessa acidez, a caseína, proteína que dá a tonalidade branca ao leite, coagula e pode, assim, ser separada para o fabrico do queijo. Na parte líquida restam sais minerais, lactose e albumina. Esta última, é um tipo de proteína que, quando exposta a vapores de ácido acético (vinagre que tem pH 4,0), coagula e precipita. Esse precipitado serve como matéria-prima para a fabricação de ricota. Agora que temos tantos tipos de queijo, só falta a goiabada!

Durante a fermentação, quando a concentração de penicilina atinge índices satisfatórios, a suspensão de fungos é recolhida. As células, então, são separadas para nova batelada, e o líquido que contém a penicilina, secretada pelos fungos, é tratado com solventes orgânicos para extrair o antibiótico, baseado no coeficiente de partição das moléculas de penicilina. Os solventes orgânicos empregados, geralmente, são acetato de etila ou acetato de butila.

Depois de extraída e purificada, a penicilina obtida, cuja fórmula estrutural você viu na **Figura 13.3**, pode servir como medicamento, porém de uso parenteral (sob a forma de injeção). As moléculas de penicilina natural podem ser alteradas quimicamente, com o intuito de torná-las resistentes à acidez estomacal e à ação das **PENICILINASES**. Dessa forma, a penicilina pode ser prescrita como medicamento de posologia oral, capaz de atuar em bactérias produtoras de penicilinase.

### Produção de enzimas

A produção de enzimas é um processo inerente a todos os seres vivos. A atividade catalítica dessas proteínas, muitas vezes, depende da presença de certos elementos químicos, que recebem a denominação de co-fatores, como, por exemplo,  $Zn^{+2}$ ,  $Ca^{+2}$  e  $Mg^{+2}$ , ou de moléculas orgânicas pequenas que são chamadas co-enzimas, porém, as mais conhecidas são aquelas que você identifica pela denominação de vitaminas.

Na produção industrial de enzimas são utilizados micróbios, em razão de suas versatilidades metabólicas, embora haja casos em que são utilizados extratos de tecidos de origem animal ou vegetal. São exemplos desses extratos a renina, obtida de estômago de bezerro, e a papaína, extraída do sumo de mamoeiro.

Os principais tipos de enzimas disponíveis comercialmente são as dos grupos das proteases, das amilases e a glicose isomerase. A **Tabela 13.2** mostra os principais tipos de enzimas, bem como seus principais usos:

**Tabela 13.2:** Principais tipos de enzimas e suas aplicações

Enzima	Aplicação
Protease	Hidrolisa moléculas protéicas
Amilase	Converte amido em glicose e/ou maltose
Catalase ou Peroxidase	Catalisa a liberação de oxigênio da água oxigenada
Invertase	Converte sacarose em glicose + frutose
Lactase	Desdobra a lactose em monossacarídeos: galactose + glicose
Lipase ou estearase	Hidrolisa moléculas de ésteres orgânicos
Celulase	Converte a celulose em glicose

#### PENICILINASES

Enzimas secretadas pelas células microbianas naturalmente resistentes à penicilina. Esse tipo de enzima degrada o anel  $\beta$ -lactâmico do antibiótico e, por isso, também recebe a denominação de beta-lactamase.

As enzimas produzidas em escala industrial são obtidas por fermentação submersa, porém atualmente vem crescendo o estudo da produção de diversas enzimas por fermentação no estado sólido.

Os meios de cultura para produção de enzimas podem ser de composição definida (meio sintético) ou de composição complexa (matérias-primas vegetais). A produção de enzimas microbianas pode ter o caráter constitutivo ou induzível. Quando são constitutivas, a produção depende, exclusivamente, da ampliação da população celular. Quanto mais células, mais enzimas. Entretanto, quando se trata de enzimas induzíveis, ou seja, aquelas que são reguláveis pelo sistema de *feedback*, que pode ser do tipo positivo ou negativo.

A caracterização das enzimas induzíveis é fruto das elegantes experiências elaboradas por François Jacob e Jacques Monod (prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina em 1965), que demonstraram que a produção de lactase em *E. coli* é um fenômeno induzível, pois depende da presença do substrato lactose. O conjunto de genes envolvidos nesse processo bioquímico recebeu o nome de operon.

Além da lactase, a urease é outro tipo de enzima bacteriana que, para ser produzida, depende da presença de uréia no meio de cultura, pois esta funcionará como indutora.

O crescimento microbiano para obtenção, em larga escala, de enzimas induzíveis é efetuado em biorreatores que são alimentados pelo processo de batelada.

A qualidade da preparação enzimática depende da finalidade a que se destina. Assim sendo, as preparações de enzimas podem ser submetidas a diferentes tratamentos. Aquelas para uso comercial ou técnico sofrem melhoramento relativamente simples, porém aquelas enzimas que se destinam a atuar como ferramentas moleculares em procedimentos analíticos (químicos ou farmacêuticos) passam por processos de purificação mais sofisticados.

## CONCLUSÃO

O suprimento de alimentos, medicamentos e produtos analíticos para atender à demanda do crescimento populacional humano tem sido alcançado graças à colaboração dos micróbios. No lazer e nas cerimônias faz-se uso de bebidas alcoólicas: cerveja, vinho e champanhe, dentre

outras. Nas refeições fazemos uso de pão e queijo. Nas doenças contamos com o auxílio dos antibióticos ou de produtos hormonais elaborados por micróbios geneticamente modificados.

O conhecimento da diversidade de processos metabólicos exercidos pelos micróbios tem sido alvo do interesse da humanidade como base para a sustentação da qualidade de vida, principalmente nas comunidades urbanas. Dentre os compostos produzidos pelos micróbios, vários têm aplicações industriais, como, por exemplo, álcoois ou ácidos orgânicos, enzimas e antibióticos. Nas indústrias, a produção desses compostos requer a definição de alguns parâmetros, como a escolha apropriada do tipo microbiano; do meio de cultura a ser disponibilizado; de condições que evitem a contaminação do processo; do tipo de biorreator e do tipo de metodologia a ser usada na recuperação da substância produzida. A produção industrial envolvendo a participação dos micróbios tem disponibilizado muitas substâncias essenciais às comunidades humanas. As metodologias que asseguram a disponibilidade de tais produtos pode ser considerada como um patrimônio científico-cultural da humanidade.

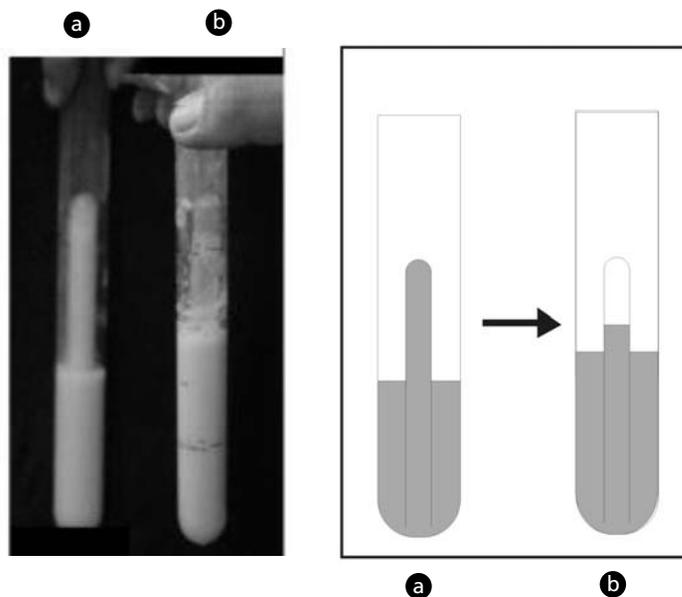
### ATIVIDADE FINAL

Esta atividade teórica vai exigir que você estabeleça uma interdisciplinaridade de conhecimentos para verificar se você tem dotes de microbiologista industrial. Como você interpretaria os resultados da experiência, cujos procedimentos obedeceram à seguinte metodologia:

1. Preparar uma solução de açúcar e nela dissolver uma certa quantidade de massa (seca ou molhada) de leveduras, que podem ser encontradas em supermercados ou padarias.
2. Pesquisar 10mL dessa suspensão de leveduras e determinar sua densidade, usando a fórmula:  $\text{massa} = \text{volume} \times \text{densidade}$  (considere  $d = 1,02$ ).
3. Encher um tubo de ensaio fino com a suspensão, cobri-lo com um tubo mais largo de maneira que um fique dentro do outro e, de forma rápida, posicioná-lo de boca para baixo. O líquido contido não vai derramar ou derramará muito pouco, como está apresentado na **Figura 13.4**.

4. Marcar a altura em que estão posicionadas a parte mais alta e a mais baixa da coluna do líquido, que estão, respectivamente, no tubo fino e no tubo grosso e incubar esse primeiro tubo na geladeira, durante 15 minutos (tendo o cuidado de anotar o início da incubação).
5. Repetir o procedimento dos itens 3 e 4, incubando os tubos em temperatura ambiente e a 37°C.
6. Observar o rebaixamento da altura do líquido em função do tempo e da temperatura de incubação.
7. Com o auxílio de uma régua, medir o espaço que a coluna de líquido deslocou de cima para baixo, em cada um dos tubos.
8. Para efeito de cálculo, considere que cada centímetro deslocado corresponde a 1mL da suspensão, cuja densidade você calculou como sendo 1,02.

Diante desses procedimentos, os resultados podem aparecer como está mostrado na **Figura13.4**:



**Figura 13.4:** Imagens e esquema do processo com o aspecto dos tubos antes e depois da incubação. Note a aparência do conteúdo do tubo que está de cabeça para baixo (a = antes; b = depois).

Em face do enunciado, esquematize, utilizando a fórmula molecular, a reação bioquímica que ocorre quando as leveduras fermentam a glicose, produzindo álcool e gás carbônico. Calcule o peso molecular de cada uma das substâncias presentes na reação. Considere que no experimento incubado na geladeira a coluna baixou 0,4cm (que é igual a 0,4mL). Na temperatura ambiente, baixou 0,9cm e a

37°, 2cm (igual a 2mL). Com estes resultados, calcule quantos gramas de CO<sub>2</sub> foram produzidos, quantos gramas de glicose foram consumidos e quantas moléculas de glicose participaram nessa fermentação que você acabou de elaborar. Agora, veja se você é capaz de representar sob a forma de gráfico o processo enzimático, levando em consideração a quantidade de gás carbônico produzido em função do tempo e da temperatura de incubação.

Valor do número de Avogadro =  $6,02 \times 10^{23}$

Pesos moleculares: carbono = 12;

oxigênio = 16;

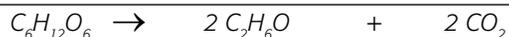
hidrogênio = 1.

#### RESPOSTA COMENTADA

É lógico que você esquematizou seu pensamento assim:

Glicose → álcool etílico + gás carbônico

E representou a reação da seguinte forma:



Calculando o peso molecular, você encontrou os seguintes valores:

180 → 2 X 46 + 2 X 44

*Ou seja:*

*Para cada 180g de glicose, são gerados 92g de álcool e 88g de gás carbônico.*

*Já que seus dados para solucionar o problema estão esquematizados, e sabendo que dois corpos não podem ocupar o mesmo local no espaço, o gás carbônico produzido dentro do tubo de cabeça para baixo passa a ocupar o espaço onde antes estava a coluna de líquido de cuja densidade você tem conhecimento. Lógico que você é bom em Física e lembrou dos princípios de Arquimedes: "Todo corpo mergulhado num líquido sofre, por parte do líquido, uma força vertical em sentido contrário, cuja intensidade é igual ao peso do líquido deslocado pelo corpo."*

*Eureka! Agora você foi capaz de calcular quantos gramas de CO<sub>2</sub> foram produzidos nos experimentos incubados nas diferentes temperaturas, e encontrou que:*

*a. no ensaio realizado a 37°C, a coluna baixou 2 cm = 2mL. Logo, o peso do líquido deslocado é 2mL vezes a densidade, ou seja, 2 x 1,02 = 2,04g;*

*b. na temperatura ambiente, o deslocamento foi de 0,9mL, que equivale ao peso de 0,918g (0,9 x 1,02);*

*c. na geladeira, o peso de gás carbônico correspondeu a 0,408g (0,4 x 1,02).*

*Com esses resultados você determinou que a quantidade de glicose consumida a 37°C pode ser calculada em função da seguinte fórmula: 180g de glicose estão para 88g de gás carbônico, assim como xg de glicose estão para 0,408 g de CO<sub>2</sub>. Como resultado desta regra de três simples, você encontrou que foram consumidas 0,834g de glicose.*

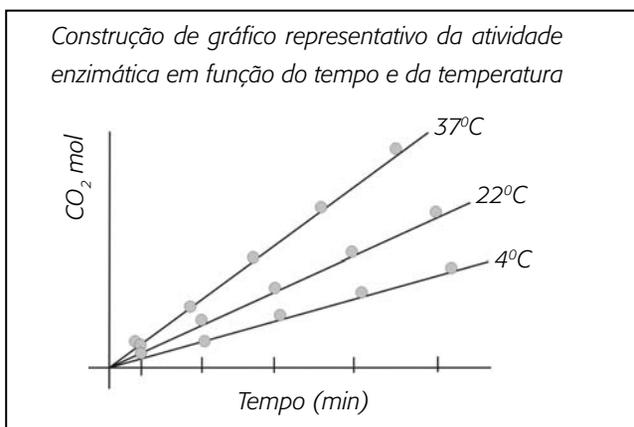
*Acreditando que você acertou o cálculo do consumo de glicose a 37°C, julgamos que você não teve maiores dificuldades com os das outras duas temperaturas.*

*E quantas moléculas de glicose participaram do processo metabólico nas diferentes temperaturas?*

*Para a resposta desta questão, você se baseou no número de Avogadro:*

*Cada 180g de glicose (1 Mol) corresponde a  $6,02 \times 10^{23}$  moléculas (nº de Avogadro), portanto, ficou fácil calcular:  $6,02 \times 10^{23}$  moléculas estão para 180g assim como X moléculas estão para 0,834g. O resultado dessa megacooperação foi  $2,789 \times 10^{21}$  moléculas de glicose consumidas em 15 minutos, a 37°C. Nas outras duas temperaturas, você com certeza não teve dificuldade em fazer o mesmo tipo de cálculo.*

Sem dúvida, você não teve problemas em fazer a representação gráfica dos eventos que consideramos nesta atividade, e seu gráfico ficou parecido com este:



## RESUMO

A utilização dos micróbios pelo homem tem permitido que esses minúsculos seres sejam utilizados em processos industriais. Vários são os produtos comercializados que têm origem nos processos metabólicos dos micróbios. Destaca-se o álcool etílico, utilizado tanto em encontros sociais quanto como combustível. A matéria-prima usada neste caso é representada por carboidratos fermentáveis. Além do etanol, tem sido alvo de grande interesse econômico a produção de ácido cítrico, pois este se presta tanto como conservante de alimentos como tem aplicações na indústria farmacêutica de medicamentos e cosméticos. O rendimento dos processos de obtenção de ácido cítrico ganha destaque quando se leva em conta o preço de insumos, a tecnologia adotada e o rendimento alcançado. O uso racional de antibióticos para fins terapêuticos é outro grande exemplo do domínio da humanidade sobre os micróbios, haja vista que neste caso emprega-se produtos de micróbios para combater micróbios. Os micróbios também têm fornecido à humanidade substâncias usadas como solventes orgânicos, tais como acetona, propanol e butanol. Mais recentemente, o domínio dos processos de recombinação genética tem possibilitado “construir” novos micróbios geneticamente modificados

para atender à demanda de produtos que vão desde enzimas e hormônios até componentes protéicos para uso diagnóstico. E assim uma nova era de “escravatura” tem início, e poderíamos defini-la não como Idade da Pedra, Idade do Bronze ou Revolução Industrial, mas sim como a era dos micróbios adestrados.

### INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

A próxima aula será prática, e você vai ter contato com micróbios hiper-salínicos ou halofílicos. Esses micróbios, seres terrestres dos mais primitivos, como o próprio nome sugere, são habitantes naturais de ambientes bem salgados. Eles são encontrados nas salinas e nas carnes conservadas em sal, como aquelas que você usa na feijoada. Aquele sabor peculiar da costela ou do pé de porco salgado é fruto da ação enzimática desses micróbios, em ambiente tão inóspito, onde conseguem sobreviver.

# Micróbios primitivos de ambientes hipersalínico – Aula prática

# AULA 14

## Meta da aula

Mostrar a existência de micróbios do filo das arqueas na biosfera, em especial, aquelas do grupo das halofílicas.

# objetivos

Esperamos que, após o estudo do conteúdo desta aula, você seja capaz de:

- demonstrar o efeito do calor sobre os micróbios halofílicos;
- mostrar que agentes químicos (desinfetantes ou anti-sépticos) também têm ação sobre os micróbios halofílicos;
- reconhecer os ecossistemas ocupados pelos micróbios do grupo das arqueas.

## Pré-requisitos

Para a compreensão desta aula, é necessário que você reveja alguns conceitos apresentados na Aula 1 (micróbios como digestores de matéria orgânica), na Aula 3 (formas vegetativas das células), na Aula 6 (necessidades nutricionais microbianas), na Aula 8 (semeadura de micróbios por esgotamento – zigzeugue), na Aula 9 (filogenia microbiana), na Aula 10 (produção de metano pelas arqueas metanogênicas) e na Aula 11 (ação de anti-sépticos e desinfetantes sobre micróbios do solo).

## INTRODUÇÃO

### PICOPLÂNTON

Zonas oligotróficas marinhas dominadas por células com dimensões lineares menores que 2µm.

### ARCHAEA

Termo que significa “os antigos”. Refere-se ao heterogêneo filo de micróbios encontráveis em ambientes extremos, daí serem conhecidos, também, como extremófilos.

Nesta aula você vai conhecer um pouco mais sobre um grupo bastante heterogêneo, de organismos procarióticos, eles são filogeneticamente distantes das eubactérias, classificados no filo *Archaea*. Ele inclui seres anaeróbicos, aeróbicos, autotróficos fotossintetizantes, heterotróficos, termofílicos, acidofílicos e halofílicos. Os membros desse filo são encontrados em ambientes hostis à sobrevivência dos outros seres vivos. São ambientes que, acredita-se, guardem semelhanças com aqueles existentes na superfície de nosso planeta, em épocas muito primitivas (muito quentes, muito frios, muito ácidos, muito alcalinos, hipersalínicos, sob alta pressão), ou seja, ambientes de condições extremas. Por isso, as arqueas também são conhecidas como seres extremófilos. Uma característica exclusiva de algumas arqueas é o metabolismo metanogênico: não se conhecem eubactérias nem eucariontes capazes de produzir metano como subproduto do metabolismo fermentativo.

Cerca de 20% da biomassa do **PICOPLÂNTON** marinho se compõem por arqueobactérias.

Apesar das características que as fazem resistentes a condições impróprias aos demais seres vivos, você verá nesta aula que as arqueas de ambiente hipersalínico também são sensíveis à ação de produtos desinfetantes que fazem parte do nosso cotidiano.

## CONVERSANDO SOBRE AS ARQUEAS

Os micróbios ocupam todos os nichos ecológicos da biosfera do nosso planeta, desde aqueles ambientes propícios aos seres humanos até aqueles mais inóspitos. A única condição que exigem é disponibilidade de água. Os micróbios que proliferam nesses ambientes adversos, geralmente, são classificados como sendo do filo **ARCHAEA**, por serem considerados os mais primitivos habitantes do nosso planeta. Você pode recordar a classificação dos organismos por meio da **Figura 14.1**.

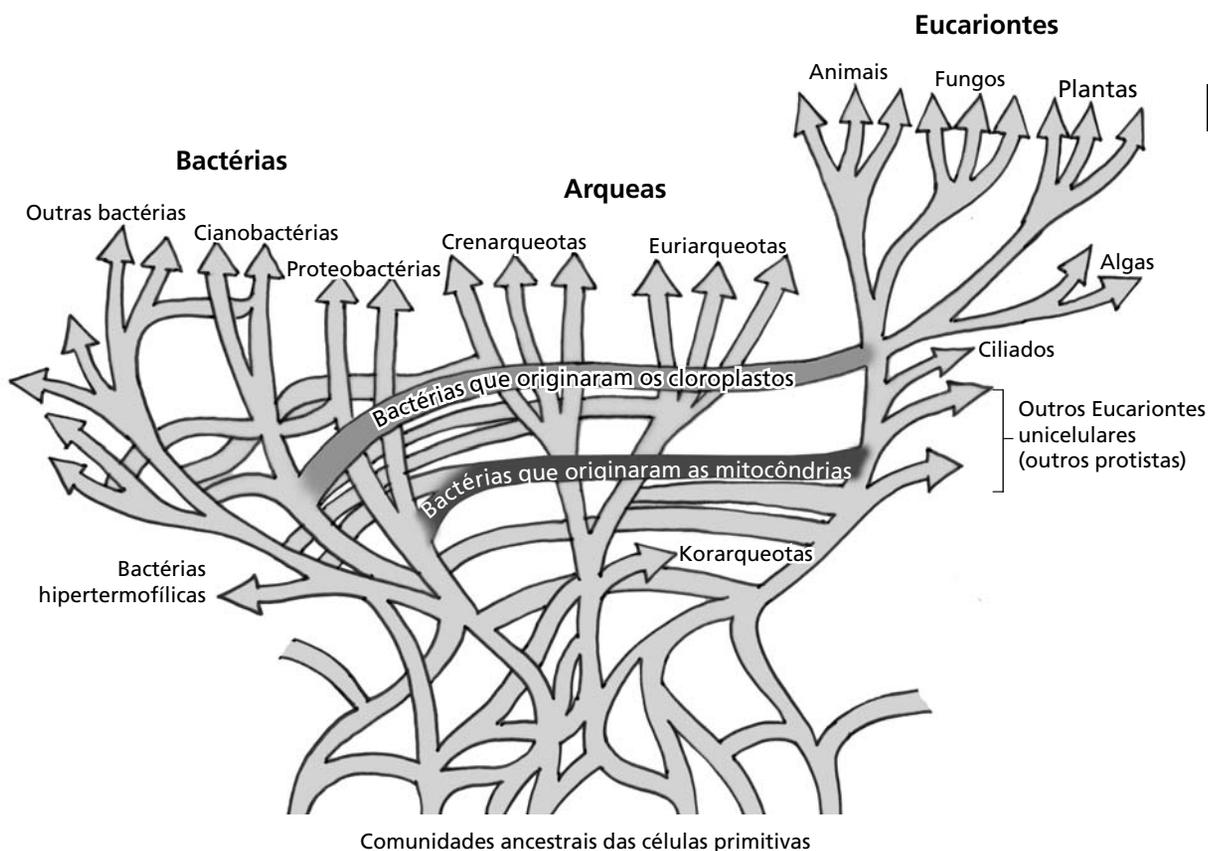


Figura 14.1: Posição filogenética das arqueas em relação aos outros seres vivos (Modif. Doolittle, 2000).

Os ambientes ocupados pelas arqueas incluem:

1 – Áreas termais, como lagos e rios de águas quentes ou regiões terrestres ou submarinas onde há vulcões ativos. As arqueas destes locais são definidas como termo-acidófilas, pois para serem cultivadas em laboratório é necessário manipulá-las em câmaras fechadas, nas quais o ar é substituído por vapores de  $\text{CO}_2$  e  $\text{N}_2$ , e incubá-las em banho-maria, regulado para temperaturas entre  $80^\circ$  e  $100^\circ\text{C}$ .



O meio de cultura para as arqueas termo-acidófilas deve ter o pH ácido, ser adicionado de enxofre inorgânico e os tubos têm de ser mantidos hermeticamente fechados por dois motivos:

- a. a água não pode evaporar;
- b. esses micróbios são anaeróbios, ou seja, o  $\text{O}_2$  lhes é tóxico.

Esta última característica torna muito fácil descontaminar os tubos ao final do trabalho. Basta abri-los e o oxigênio do ar faz o resto.

**MICRÓBIOS  
METANOGENÉTICOS**

Aqueles que, pela fermentação, produzem metano (veja a **Figura 10.3** da Aula 10).

**FOGO-FÁTUO**

Luz que é vista à noite emanando de terrenos pantanosos ou de sepulturas, resultante da combustão do metano proveniente da decomposição da matéria orgânica.

2 – Ambientes ricos em gás metano ( $\text{CH}_4$ ) – As arqueas de ambiente rico em gás metano são aquelas encontradas em locais encharcados, ricos em sedimento de matéria orgânica. Embaixo desse sedimento estão os

**MICRÓBIOS METANOGENÉTICOS.**

O metano é um gás facilmente inflamável, por isso, é o responsável pelo fenômeno do **FOGO-FÁTUO**.

As arqueas metanogênicas também podem ser cultivadas em laboratório, mas por serem anaeróbicas, como os termofílicos, precisam ser manipuladas nas cabines fechadas, saturadas com nitrogênio ( $\text{N}_2$ ) e gás carbônico ( $\text{CO}_2$ ). Para descontaminação, deve ser seguido o mesmo procedimento: é só abrir o tubo.

3 – Áreas salgadas do planeta, de onde se extrai o sal de cozinha, como exemplificado na **Figura 14.2**.

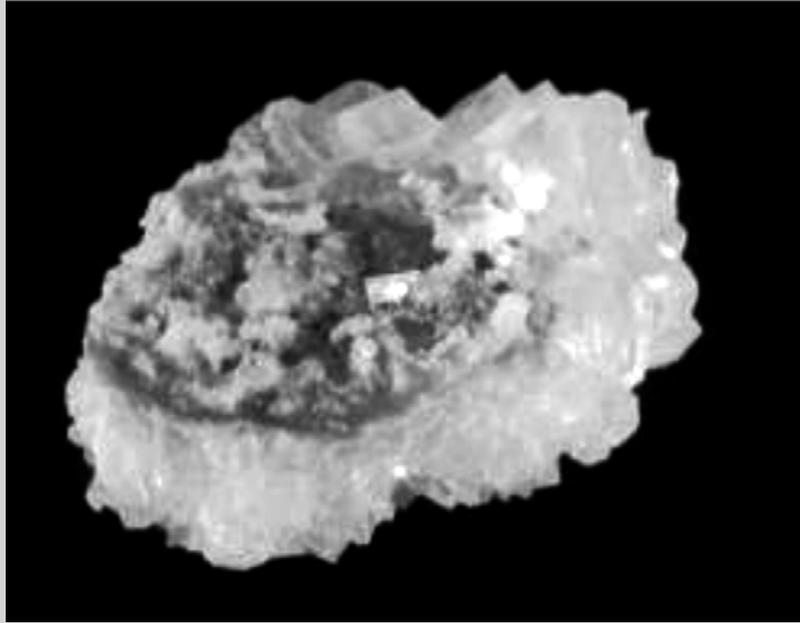
Esses ambientes hipersalínicos são os locais propícios à proliferação dos seres halofílicos. Quanto mais alta a concentração de cloreto de sódio ( $\text{NaCl}$ ) na água, melhor. À medida que o ambiente vai se tornando inóspito para os outros seres vivos, o grupo das arqueas é favorecido.

Em viagens de turismo você pode visitar grandes lagos salgados na América do Norte (EUA), na América do Sul (Peru), na Europa (Rússia) e na África (Etiópia). Você pode encontrar no litoral brasileiro, algumas regiões onde há salinas (veja a **Figura 14.2**). Nestes locais, a formação do sal é obtida pela evaporação da água. Há ainda os depósitos naturais de cloreto de sódio, denominados pelos geólogos como minas de sal gema ou minas de halita.



**Figura 14.2:** Extração de sal no litoral brasileiro, onde a água do mar é contida em reservatórios para evaporar.  
[http://200.156.34.70/IQM/verde/verde/cap2\\_files/fotos/salina.jpg](http://200.156.34.70/IQM/verde/verde/cap2_files/fotos/salina.jpg)

O prefixo *hal* significa sal, o que justifica os termos halofílicos para os micróbios e o termo halogênicos para os elementos químicos. O sufixo *ita* refere-se a pedra ou cristal. Então halita quer dizer sal cristalizado, como você pode ver um fragmento de rocha de sal nesta figura obtida no *site* <http://zdna2.umbi.umd.edu/~haloed/>



O cultivo de micróbios halofílicos é uma dádiva para quem ensina Microbiologia, principalmente sob a forma de aulas práticas pois:

- são seres que suportam o contato com o oxigênio, característica que facilita a manipulação (diferentemente das termofílicas e das metanogênicas);
- o meio de cultura usado tem alta concentração de NaCl, que atua como uma barreira seletiva para os outros tipos de micróbios. Assim, as técnicas de cultivo dispensam a esterilização, o uso de equipamentos esterilizados e as manobras assépticas;

- a descontaminação é fácil: basta lavar com água. Quando a concentração de sal diminui, as arqueas halofílicas explodem, pois, diferente das bactérias verdadeiras (*eubactérias*), a parede celular das halofílicas é desprovida de mureína. Nelas a estrutura de parede é uma capa de proteínas que se mantêm unidas e dão a forma bacilar à célula, em função da presença do NaCl. Se a concentração de sal diminui, as proteínas se dissociam, as células tornam-se esféricas e, finalmente, explodem.

No nosso cotidiano, o convívio com as arqueas halofílicas, em particular aquelas do gênero *Halobacterium*, pode ser evidenciado durante uma visita a um supermercado ou em um encontro para degustar uma feijoada. Estamos nos referindo às carnes salgadas como costela, pé, orelha, lombo, que foram conservadas em sal: além de não estragarem, tiveram seu sabor modificado pela ação dos micróbios halofílicos que nelas proliferaram. Embora estes micróbios proliferem na carne, esta não adquire as características de podridão, porque as arqueas halofílicas não têm enzimas do tipo desulfidrilase. Estas enzimas, ao atuarem sobre os aminoácidos cisteína e metionina, removem o radical tio-álcool (-SH), gerando gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S), cujo odor, sugere carne podre. Nas carnes salgadas, os micróbios do ar ou do solo não proliferam, porém os halofílicos sim. O processo de colonização de halobactérias nas carnes é acompanhado da digestão parcial deste produto. Por isso, se o seu paladar é apurado, você deve ter sentido o sabor peculiar proporcionado pelos seres halofílicos às carnes daquela feijoada.

Nesta aula prática, vamos demonstrar que é possível cultivar micróbios halofílicos (*halobacterium sp.*) e avaliar o impacto de substâncias desinfetantes ou anti-sépticas sobre o ambiente desses seres.



## ATIVIDADES PRÁTICAS

a. Reconhecimento das características fisiológicas dos micróbios halofílicos.

Para execução desta etapa da prática, você deve ter em mente a seguinte questão: *Halobacterium* são tipos microbianos que formam esporos?

Esta questão será respondida de maneira prática e, para isso, você vai testar o efeito do calor sobre as populações microbianas halofílicas.

b. Reconhecimento do impacto dos agentes antimicrobianos, de uso corrente pela população humana, sobre os micróbios habitantes de ambientes hipersalínicos.

Nesta etapa do trabalho, você deve ter em mente a seguinte questão: os produtos anti-sépticos e desinfetantes lançados na água, após o uso, são prejudiciais aos micróbios de ambientes inóspitos? Se forem, o uso desses produtos pode ser considerado um crime, de efeito retardado, contra a Natureza?

Para execução destas práticas, você utilizará os seguintes materiais:

- tubo com amostra de micróbios halofílicos, previamente cultivados a partir de carne salgada (pé de porco) e clonados em meio de cultura hipersalínico;
- tubo de ensaio vazio, com tampa;
- alça metálica;
- bico de Bunsen ou lamparina;
- fósforos;
- 1 bulbo de plástico;
- 2 placas de Petri com meio de AGAR-HIPERSALÍNICO para cultivo dos micróbios halofílicos;
- estufa calibrada para 37°C;
- panela para ferver água;
- fogão ou tripé para colocar a panela na chama do bico de Bunsen;
- suporte para tubo (lata estreita);
- 5 a 7 disquinhos de papel filtro;
- desinfetantes e anti-sépticos;

### AGAR-HIPERSALÍNICO

O meio de cultura definido como hipersalínico utilizado nesta prática tem a seguinte formulação e modo de preparo:

#### Formulação

H <sub>2</sub> O	250mL
NaCl	24g
KCl	1g
Caldo nutritivo em pó	10g
Extrato de levedura	1g
Agar agar puro	4g
Azul de bromotimol a 1%	1mL

#### Preparo

Pesar os componentes do meio (cada componente deverá ser pesado individualmente sobre um pedaço de papel alumínio, portanto, a balança deverá ser calibrada antes de cada pesagem). Juntar todos os componentes secos no Erlenmeyer e em seguida adicionar a água. Ferver a mistura até dissolver o agar-agar e, em seguida, verter 20mL em cada placa de Petri. Deixar à temperatura ambiente e aguardar até que o meio gelifique. Tampar as placas e identificá-las. Embrulhá-las com filme plástico, de forma hermética, para poder estocá-las, sob refrigeração (2-8°C), por até seis meses.

- recipientes para colocar essas substâncias (podem ser tampas de garrafas plásticas);
- pinça;
- *swab*;
- régua;
- caneta para escrever em plástico.

### **Execução**

a. Para desenvolver esta primeira parte, pergunte ao tutor se a cultura de micróbios halofílicos foi ativada com, pelo menos, 24 horas de antecedência (isso significa que a suspensão foi deixada na temperatura ambiente). Se a resposta for afirmativa, siga os seguintes procedimentos:

1. com auxílio do bulbo de plástico, retire um pouco da suspensão de *Halobacterium sp.* recebida para trabalho e adicione no tubo vazio tampando-o em seguida;
2. coloque este segundo tubo na água fervente por 10 minutos;
3. com a caneta de retroprojeter, faça uma linha no fundo da placa, pelo lado de fora, para dividi-la em duas metades e marque F e NF, respectivamente;
4. com a alça flambada recolha amostra da preparação microbiana que foi fervida e execute a técnica de semeadura por esgotamento, na parte marcada F. Isto deve ser feito deslizando-a suavemente, em ziguezague, sobre o meio de cultura, como você aprendeu na Aula 8;
5. repita o item 4 com a preparação microbiana não fervida, na parte da placa marcada NF;
6. faça a identificação da placa anotando seu nome e a data. Essas anotações devem ser feitas na parte inferior da placa, nunca na tampa;
7. leve a placa para a estufa, incubando-a com a tampa para baixo, durante 48 horas. Após esse período, providencie para que a placa seja retirada da estufa e vedada, passando-lhe uma fita adesiva (crepe ou durex) em volta da borda de modo que fique hermeticamente fechada. A leitura dos resultados pode ser feita nesse mesmo dia ou, se possível, a placa pode ser mantida na geladeira por um período de até dez dias.

Função dos ingredientes usados na confecção do meio de cultura:  
– caldo nutritivo – o pó para preparo de caldo nutritivo tem em sua composição 37,5% de extrato de carne e 62,5% de peptona. Entra na composição do meio como suprimento de fonte de nitrogênio e carbono.  
– extrato de levedura – fonte de vitaminas, principalmente, aquelas do complexo B.  
azul de bromotimol – substância indicadora de pH. Quando o meio está verde seu pH é neutro, quando amarelo o pH é ácido e quando alcalino aparece como azul.

### Breves comentários

Fazendo a leitura e interpretação dos resultados, você deve observar as colônias microbianas formadas na superfície do meio de cultura, atentando para a quantidade que aparece em cada uma das metades da placa.

Considerando que uma das amostras da preparação microbiana foi submetida à fervura por dez minutos, você esperava que houvesse ainda micróbios vivos naquela suspensão? Com certeza, não, pois este tipo de micróbios não esporula.

Neste caso, você concluiu que a fervura da água pode ser considerada um processo de esterilização, pois percebeu que as formas vegetativas não resistem à fervura.

Esperamos que a sua placa tenha aspecto semelhante ao da **Figura 14.3**.



**Figura 14.3:** Micróbios halofílicos semeados em meio de cultura hipersalínico. À esquerda região semeada com suspensão microbiana não fervida; à direita, a suspensão foi semeada após fervura por 10 minutos.

b. Reconhecimento do impacto dos agentes anti-microbianos, de uso corrente pela população humana, sobre os micróbios habitantes de ambientes hipersalínicos.

Os micróbios de ambiente hipersalínico habitam um paraíso ecológico que, embora seja impróprio para outros seres vivos, para eles é o ambiente mais propício. A obtenção de NaCl para uso químico (puro) ou para dieta alimentar (SAL IODADO OU SAL DE COZINHA) está diretamente relacionada a um processo de evaporação da água de reservatórios onde estavam dissolvidos os elementos  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ . À medida que a água vai evaporando, a concentração de sal vai aumentando. Quando seca, o sal cristaliza. Se este tipo de fenômeno aconteceu em mares primitivos, esse sal acumulado é reconhecido pelos geólogos como uma mina de halita.

#### SAL IODADO OU SAL DE COZINHA

É o NaCl adicionado de íons iodo. A incorporação de iodo ao sal destinado à culinária foi uma maneira criativa adotada pelas autoridades médico-sanitárias para resolverem o sério problema de bócio endêmico nas populações que viviam em áreas afastadas do litoral.

A carência de iodo regular na dieta pode provocar desequilíbrio metabólico, que resulta em falta de disposição para as atividades rotineiras. As pessoas acometidas dessa carência passam a ter uma superatividade da glândula tireóide. O aumento da atividade faz a glândula crescer. Como essa glândula está posicionada na parte da frente do pescoço, as pessoas passavam a apresentar um intumescimento no pescoço, o bócio. No Brasil, a iodação do sal para consumo humano passou a ser obrigatória somente em 1953. A partir de 1974, essa obrigatoriedade foi estendida também para o sal destinado ao consumo animal (Lei nº 6.150). Desde então, a legislação vem procurando adequar a concentração de iodo, para melhor proteger a população dos distúrbios causados pela deficiência desse halogênio. A lei de 1999 exigia que o teor de iodo, no sal, devia estar na faixa entre 40 e 100 ppm (ppm = partes por milhão). Em outras palavras, gramas de iodo por tonelada de sal). Pela lei de fevereiro de 2003, a iodação do sal foi ajustada para a faixa de 20 a 60 ppm. Todas essas adequações, recomendadas pelo Ministério da Saúde brasileiro, são feitas por especialistas nacionais no tema, seguindo as normas da Organização Mundial da Saúde. Mais informações a respeito desse assunto você pode obter acessando o sítio: [http://dtr2004.saude.gov.br/nutricao/def\\_iodo.php](http://dtr2004.saude.gov.br/nutricao/def_iodo.php).

Considerando que a obtenção do sal envolve a eliminação da água por evaporação, todo e qualquer produto não volátil que esteja dissolvido nesse volume de água será gradualmente concentrado, tal como o NaCl. Desse modo, a crescente necessidade humana de agentes antimicrobianos para suas necessidades de desinfecção ou anti-sepsia resulta em produtos que são carregados pela água de lavagem para os sistemas de tratamento de esgoto ou, quando este não existe, para os afluentes que os levarão para os rios e daí, finalmente, para o mar. Portanto, é necessária conscientização para evitar o desperdício ou o uso exagerado desses produtos

que, se à primeira vista apresentam-se como benéficos, a longo prazo prejudicarão o meio ambiente das futuras gerações ou, em particular, dos nossos descendentes (filhos, netos, bisnetos, tataranetos...). Em qual cultura humana se pensa em preservar as condições ambientais para os descendentes que nascerão 400 ou 500 anos à frente?

Para esclarecer dúvidas sobre possíveis crimes contra a Natureza, utilizando micróbios halofílicos como denunciadores, execute os seguintes procedimentos:

1. executando manobras assépticas, você deve impregnar um swab com a suspensão original de micróbios halofílicos ativados (não fervido) para semear a segunda placa de agar hipersalínico por toda a superfície. Para ter certeza de que a semeadura executada vai gerar um crescimento perfeitamente confluyente, repita o procedimento, pelo menos, mais uma vez;
2. imediatamente após a semeadura das placas, você vai precisar utilizar a pinça para segurar os discos de papel. Antes, identifique cada disco com um número, escrito com grafite, e anote no seu caderno, o tipo do agente antimicrobiano que ele carregará. Para cumprir esta tarefa proceda da seguinte forma:
3. desinfete a ponta da pinça, usando um algodão com álcool;
4. segure um dos discos de papel de filtro com a pinça e depois o mergulhe na respectiva preparação de desinfetante ou anti-séptico. Deixe escorrer o excesso, pressionando-o levemente nas bordas do recipiente;
5. posicione o disco, com o número para cima, em um ponto da placa que foi semeada por toda superfície. Depois faça uma leve pressão para fixá-lo à camada do meio de cultura;
6. repita os procedimentos 3, 4 e 5 com os outros desinfetantes, fixando os discos em posições equidistantes na placa;
7. incube a placa, por 48 horas, a 37° C, com a tampa para baixo;
8. caso sua programação de aulas não coincida com o tempo da leitura dos resultados, após o tempo de incubação, a borda da placa deve ser vedada com fita crepe e a mesma colocada na geladeira, para posteriormente ser analisada com o seu tutor, de acordo com o diâmetro dos halos de inibição formados.

Os resultados devem ser semelhantes aos que você observou na Aula 8, quando aplicou desinfetantes e anti-sépticos contra micróbios do solo.

### **Breves comentários**

Como você já viu na Aula 8, independente da fisiologia das células microbianas, os danos provocados pela ação dos agentes antimicrobianos devem ser interpretados da seguinte maneira:

– a toxicidade do produto está diretamente relacionada com o diâmetro do halo de inibição do crescimento microbiano, formado em torno do disco de papel, pois a substância antimicrobiana, impregnada no disco, se difunde radialmente no meio de cultura onde os micróbios foram inoculados;

– os micróbios que forem sensíveis só crescerão onde o agente antimicrobiano não chega ou, se chega, não alcança uma concentração capaz de inibir o crescimento. Por isso, forma-se o halo de ausência de crescimento ao redor do disco;

– nesse tipo de teste, o aparecimento do halo de inibição depende do tipo e da concentração populacional dos micróbios inoculados, da natureza e da concentração das substâncias empregadas, da temperatura e do tempo de incubação;

– se o produto for inócuo, os micróbios se mostram resistentes e crescem normalmente ao redor do disco, não havendo, portanto, a formação do halo de inibição;

– terminada a fase de leitura e análise dos resultados, discuta com seus colegas e com o tutor sobre a dinâmica das populações microbianas na Natureza e o impacto dos produtos antimicrobianos nos ecossistemas de nosso planeta.

## **CONCLUSÃO**

Você viu nesta aula que as arqueas são células microbianas que sobrevivem em condições extremas de ambiente físico ou químico. As arqueas, de acordo com os seus habitats, podem ser classificadas como termofílicas, metanogênicas e halofílicas. As primeiras são seres anaeróbicos que se desenvolvem em ambiente de temperatura variando entre 65°C a 95°C. As metanogênicas também são anaeróbicas, e são responsáveis pela produção de gás metano a partir da matéria orgânica. As halofílicas são aeróbicas, mas têm o metabolismo dependente de íons sódio para estabelecer o equilíbrio sódio-potássio e para a estruturação da parede celular, que é protéica. As halofílicas se apresentam como uma excelente ferramenta para os ensaios microbianos, pois podem ser

manipuladas sem necessidade da obediência às manobras assépticas, embora, para não perder o costume, seja conveniente, quando possível, adotar essas manobras. Como representantes dos seres que sobrevivem em ambientes exóticos, os micróbios halofílicos se prestam como informantes sobre o efeito de produtos que, se acumulados no ambiente, podem provocar crimes contra a Natureza.

## RESUMO

Alguns tipos de micróbios, característicos de ambientes inóspitos para a maioria dos outros seres vivos, são os termofílicos, os metanogênicos e os halofílicos. Utilizando-se micróbios halofílicos, foram desenvolvidos experimentos para responder a duas questões: estes seres formam esporos? A poluição ambiental pode prejudicá-los? Pela análise dos resultados verificou-se que os micróbios halofílicos não esporulam, pois foram completamente destruídos após 10 minutos de exposição à água fervente. Também foi constatada a ação de agentes anti-sépticos e desinfetantes como inibidores do crescimento populacional desse tipo de arqueas. Como perspectiva, é sugerida a conscientização do zelo pelo planeta que, no futuro, estará sendo ocupado pelos descendentes de todos nós.

## INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

Na próxima aula, você vai compreender por que os vírus atravessam as membranas esterilizantes que retêm os micróbios, e também como os fatores fisiológicos, que garantem as condições vitais dos animais, contribuem para a instalação das suas viroses.



# AULA 15

## A descoberta dos vírus e as viroses em animais

### Meta da aula

Descrever vírus como produto celular sob a forma de arranjos moleculares, que se prestam, também, como ferramentas para compreensão da fisiologia das células.

## objetivos

Esperamos que, após o estudo do conteúdo desta aula, você seja capaz de:

- relacionar a expressão das viroses com a quantidade de células, presentes no corpo de um animal, competentes para produção de vírus;
- explicar por que as infecções virais são as mais freqüentes entre os seres humanos;
- descrever os tipos de sistemas biológicos utilizados para a propagação de vírus em laboratório e como essa propagação pode ser detectada.

### Pré-requisitos

Para que você possa ter um bom desempenho no entendimento desta aula é necessário rever os conceitos de Química Orgânica e Bioquímica da síntese de proteínas e de ácidos nucléicos. Também será muito proveitoso você rever os produtos das células na nossa Aula 3, bem como fração cristalizável de anticorpos da Aula 6 de Imunologia. Para desenvolver a Atividade 2, você precisará de canudinhos de plástico, fita-crepe e papel crepom.

## INTRODUÇÃO

### EPIDÊMICO

Do grego *epi* “sobre, em cima de” e *demōs* “região, povo, país”. Que atinge, simultaneamente, grande número de indivíduos.

O estudo retrospectivo das civilizações humanas mostra que os povos sempre se preocuparam com as doenças epidêmicas que dizimavam parte da população, e que eles sabiam que, em determinados episódios de alguns tipos de doenças, algumas pessoas morriam, outras adoeciam e se curavam, e outras não apresentavam nenhum sintoma. Quando acontecia um novo episódio desse mesmo tipo de doença, as que se haviam curado passavam incólumes e dentre os que nada haviam sofrido, alguns continuavam livres da moléstia, enquanto outros, ao adquiri-la morriam ou se curavam. Assim, numa população humana, podem ser identificados três grupos de pessoas: aqueles que quando infectados sucumbem; aqueles que se infectam e sobrevivem, e aqueles que nada sofrem.

As doenças em que essas situações podem ser observadas são aquelas de caráter **EPIDÊMICO**. Segundo estatísticas da OMS, 66,7% delas são viroses. Em função do conhecimento atual, entender os mitos atribuídos às doenças infecciosas pelos nossos antepassados é função da Virologia, ciência que baseia todos os seus fundamentos em princípios de Fisiologia Celular e de Físico-química. Dessa forma, à medida que avançam as tecnologias que dão suporte às pesquisas em Virologia, a compreensão dos fenômenos virológicos vem sendo modificada. Os animais domésticos e as plantas, que também são seres vivos e, portanto, constituídas de células, são passíveis de desenvolver suas viroses, pois a unidade fundamental da virologia está na célula viva. Isso pode gerar sérios prejuízos a setores da pecuária e da agricultura.

Somente após os trabalhos pioneiros desenvolvidos por Louis Pasteur (1822-1895), na França, e por Robert Koch (1843-1910), na Alemanha, foram instaladas as bases da Microbiologia, ciência que estabelecia e relacionava para cada tipo de doença infecciosa um tipo de micróbio como agente etiológico. Já nessa época, os microbiologistas para exercerem seu trabalho, precisavam ter conhecimento sobre as técnicas de assepsia e de preparação dos meios de cultura, esterilizando os nutrientes por filtração. Neste processo, os elementos filtrantes se caracterizam pelos poros que retêm a passagem de qualquer ser vivo.

Entretanto, os pesquisadores daquela época não conseguiam cultivar o agente etiológico de muitas doenças infecciosas, mesmo quando utilizavam as melhores condições nutritivas e ambientais.

É esse o assunto que você irá conhecer ao estudar o conteúdo desta aula. Para ter um bom aproveitamento, você deve estar com a mente despojada de (pré) conceitos. Assim, perceberá que as viroses apresentam-se como fatores de seleção das espécies na Natureza.

A compreensão dos fenômenos biológicos decorrentes das viroses influi sobremaneira nas mudanças comportamentais da sociedade.

Até 2005, a Virologia como disciplina era oferecida em apenas 20% das escolas de Medicina do nosso país, e em percentual muito menor nas outras escolas da área biomédica; portanto, orgulhe-se deste privilégio que você está tendo agora.

## BREVE HISTÓRIA DA DESCOBERTA DOS VÍRUS E DAS VIROSES

Examinando uma doença que ocorria nas plantações de fumo utilizado na fabricação de cigarros, os fitopatologistas Dmitri Ivanowski (1864-1920), na Rússia, em 1892, e o holandês Martinus W. Beijerinck (1851-1931), em 1898, mostraram que a doença chamada **MOSAICO DO TABACO** estava associada a agentes infecciosos de tamanho tão diminuto que podiam passar pelos poros dos filtros que retinham os micróbios. Isto porque, quando o sumo extraído de folhas de plantas infectadas era filtrado, o líquido obtido continuava infeccioso. Este fato levou-os a pensar que se tratava de possíveis **TOXINAS** produzidas pelos micróbios que haviam sido retidos na filtração. Por isso foi dado a esse produto infeccioso o nome de *virus*, que em latim significa toxina ou veneno.

Entretanto, foi na busca para a caracterização do agente etiológico de uma doença infecciosa do gado bovino, a **FEBRE AFTOSA**, que Friedrich Loeffler (1852-1915) e Paul Frosch (1860-1928), em 1898, na Alemanha, demonstraram não só que o agente era filtrável, como também que a quantidade desse agente era amplificada no corpo dos novos animais inoculados. Isso foi notado porque, mesmo se uma ínfima quantidade da baba filtrada de um animal com febre aftosa fosse inoculada num bovino sadio, quando este adoecia era possível recolher dele uma quantidade do agente infeccioso suficiente para inocular em milhões de outros animais. Essa situação diferenciava nitidamente o agente causal da febre aftosa das toxinas secretadas por micróbios. O mesmo tipo de fenômeno também foi observado por Martinus Beijerinck (1851-1931) com o mosaico do tabaco. Diante desses novos conceitos, foram caracterizados os vírus, como nós os concebemos hoje.

### EPIZOOTIA

*Epi* = sobre; *zoo* = animais (equivalente às epidemias entre os seres humanos).

### MOSAICO DO TABACO

Doença que acomete as plantas da espécie *Nicotiana tabacum*, deixando-as com folhas salpicadas de regiões descoradas, o que levou os antigos a denominar mosaico esse aspecto.

### TOXINA

Veneno de natureza protéica, produzido por bactérias, parasitos e alguns fungos.

### FEBRE AFTOSA

Doença que acomete animais domésticos ou selvagens com patas biunguladas, ou seja, aqueles que têm duas unhas em cada pata (bovinos, ovinos, caprinos, suínos e outros). Os sintomas incluem aftas generalizadas por todo o epitélio bucal, que resultam em descolamento da camada de mucosa, deixando o tecido em carne viva. Ocorrem também lesões pustulares nas patas, no espaço entre as duas unhas. Nos países de língua inglesa, essa virose tem o nome de *foot and mouth disease* (doença de pé e boca). Essas lesões fazem com que o animal pare de comer, beber e se deslocar, resultando na sua morte por inanição. Uma **EPIZOOTIA** de febre aftosa provoca graves prejuízos para o pecuarista e, por tabela, para a economia do país onde surtos dessa virose ocorram.

Durante o período de 1900 a 1930, os virologistas voltaram-se, basicamente, para dois aspectos:

1. a demonstração dos agentes filtráveis nos casos de várias doenças, associando-os quer aos sintomas macroscópicos quer às anormalidades citológicas reveladas pela microscopia óptica;
2. as maneiras de transmissão experimental das viroses de animais de uma espécie para outra, com vistas a ampliar as opções de sistemas biológicos (ou seja, a coleção de espécies animais com possibilidade de utilização para estudos).

A partir de 1930, uma nova abordagem da Virologia teve início com o trabalho do químico orgânico Wendell M. Stanley (1904-1971), que aplicou métodos físico-químicos, com o intuito de caracterizar os agentes do mosaico do tabaco. Até aquela época, o que se conhecia sobre eles era que eram filtráveis, não sedimentavam quando centrifugados, não podiam ser cultivados como os micróbios e, muito menos, serem visualizados ao microscópio óptico, embora fossem infecciosos.

Com o intuito de esclarecer que coisa era essa, produzida pelas plantas infectadas, Stanley partiu do princípio que todo produto originário de células deve ser constituído por, pelo menos, um dos seguintes componentes: proteínas, ácidos nucléicos, carboidratos ou lipídios. Ele conseguiu, em 1935, nos EUA, obter preparações purificadas desses vírus sob a forma de cristais. Quimicamente, estes eram constituídos por proteínas e ácidos nucléicos. Além do mais, quando esses cristais eram dissolvidos em água, o produto era infeccioso e podia ser recristalizado, mantendo a infecciosidade mesmo quando submetido a dez ciclos sucessivos de dissolução e recristalização. Outros tipos virais foram posteriormente obtidos puros sob a forma de cristais, mostrando assim a natureza orgânica (núcleo-proteína) desses elementos infecciosos. A cristalização das partículas virais sugeriu que as proteínas que as formavam eram todas de um mesmo tipo, pois só assim é possível ocorrer

esse fenômeno (você se lembra do box sobre cristalização de proteínas apresentado na Aula 6 de Imunologia?).

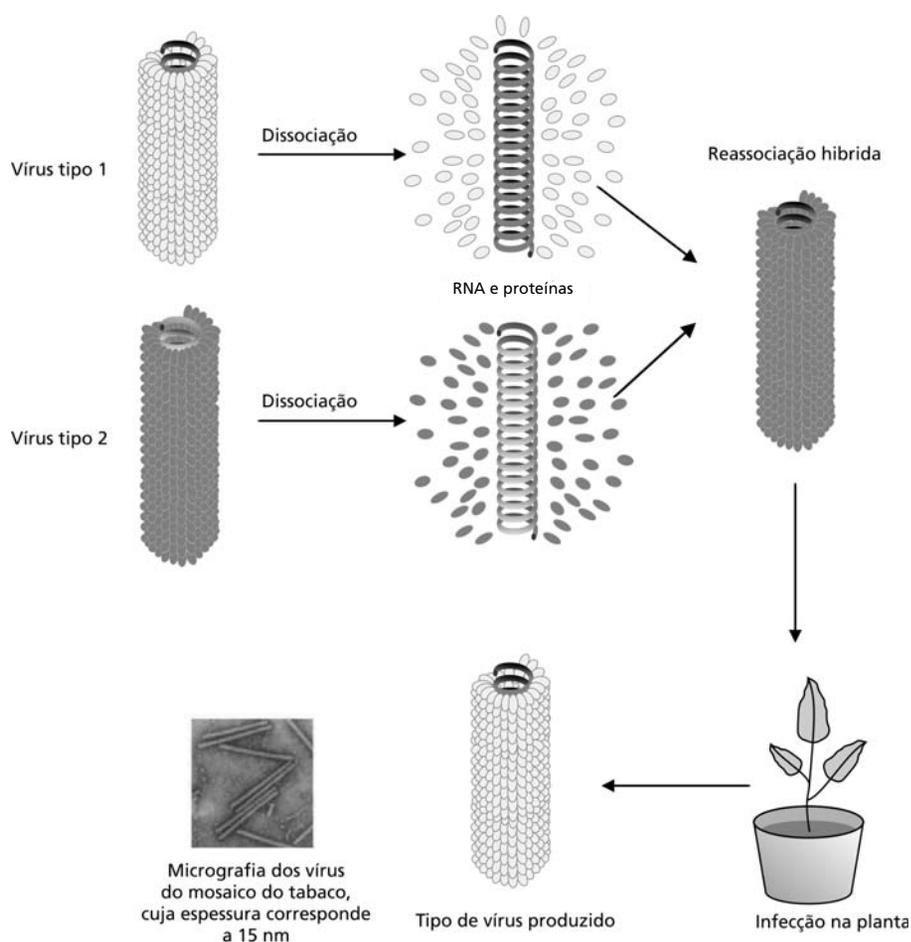
Você pode ver na **Figura 15.1** alguns tipos de cristais formados após a obtenção de preparações virais purificadas.



**Figura 15.1:** Cristais de uma preparação de vírus da poliomielite.

Trabalhos desenvolvidos com os vírus do mosaico do tabaco, cujo ácido nucléico genômico é do tipo RNA, demonstraram que cada molécula de RNA estava coberta por unidades de um mesmo tipo de proteína, formando um arranjo molecular. H. Fraenkel-Conrat (1910-1999) e F. Sanger (1918 - ), utilizaram preparações purificadas de dois tipos de vírus do mosaico do tabaco (TMV) e, a partir destas, conseguiram construir um novo tipo de partícula viral híbrida, formada por ácido nucléico de um dos tipos, e proteína do outro.

Utilizando técnicas de precipitação de proteínas, Fraenkel-Conrat & Sanger (1957) publicaram um trabalho mostrando que, ao separar as proteínas e os ácidos nucléicos das partículas de dois tipos de vírus, obtinham depois a remontagem com as proteínas de um tipo viral associadas ao ácido nucléico do outro. Ao infectarem uma planta de fumo com esse tipo de vírus híbrido, eles perceberam que a planta apresentava infecção correspondente à virose característica do tipo viral de onde foi extraído o ácido nucléico, mostrando assim que a produção de vírus pelas células independe do tipo de proteína que esteja presente nas partículas. Esse trabalho estabeleceu o caráter genético do RNA e está representado na **Figura 15.2**.



**Figura 15.2:** Representação esquemática ilustrando o desmonte dos componentes de uma partícula viral e a evidência da montagem espontânea, dando origem a uma partícula viral híbrida que se presta para demonstrar que as moléculas de RNA carregam informações genéticas. Na micrografia eletrônica, podem ser observadas partículas de TMV.

A idéia de vírus como sendo arranjos moleculares ficou consagrada através de experimentos efetuados por A. Molla e colaboradores que, em 1991, conseguiram sintetizar partículas de vírus da poliomielite por técnicas moleculares. Nessas condições eles propuseram a fórmula química destes vírus como sendo  $C_{332.662}, H_{492.388}, N_{98.245}, O_{131.196}, P_{7.500}, S_{2.340}$ .

Entretanto, antes de se chegar a esse nível, a compreensão sobre a forma como as partículas virais são geradas pelas células infectadas foi gradualmente alicerçada, a partir de 1930, pelas pesquisas efetuadas com viroses de bactérias, merecendo destaque os trabalhos efetuados por Emory Ellis e Max Delbrück, em 1939, e os de Alfred Hershey e Martha Chase, em 1952, que os fez merecedores, junto com Salvador Luria, do Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina em 1969. Não perca nossa próxima aula, na qual traremos mais detalhes sobre a elegância e a contribuição científica dos experimentos desses pesquisadores.

## Vírus e viroses

Considerando os vírus como arranjos moleculares, para que estes sejam produzidos pelas células faz-se necessário que as mesmas disponham do repertório enzimático adequado ao exercício desta função. Por isso, quanto mais amplo for o repertório enzimático de um tipo celular, maior será a probabilidade de ele ser competente para sintetizar os componentes virais.

Competência Celular para Produzir Vírus – Você já sabia que vírus são produtos celulares! E sabe, também, que para uma célula fabricar alguma coisa é necessário que ela possua as “ferramentas” adequadas para tal. As ferramentas celulares são as enzimas. Portanto, quanto mais tipos diferentes de enzimas uma célula puder expressar, maior é a chance de que, dentro desse repertório enzimático, estejam presentes as enzimas que são necessárias à síntese dos diferentes elementos codificados pelos genomas virais. Daí que, quanto maior for a versatilidade metabólica das células, maior será a chance de elas serem competentes para a produção de vírus. Atente que o corpo de um animal pode ter células com diferente versatilidade enzimática. No entanto, quanto mais células competentes (para fazer um determinado tipo de vírus) ele possuir, mais grave será a virose nesse animal.

### **VIRION**

Partícula viral completa, portanto, com potencial infeccioso.

Portanto, num indivíduo contaminado, quanto maior for a quantidade de suas células com essa potencialidade mais acentuada será o grau de comprometimento do seu organismo com a virose em questão. Para reforçar esta idéia, daqui para a frente, você deve ter sempre em mente que, quanto maior for a quantidade de células competentes para produzir **VIRIONS**, mais intenso será o quadro de virose. Em linguagem médica, a quantidade de vírus presentes em um indivíduo infectado é denominada carga viral e está diretamente relacionada com a quantidade de células que estiverem envolvidas com a virose.



**ATIVIDADE**

1. No cotidiano das pessoas, embora com pouca frequência, é possível encontrar doentes com **CATAPORA**. Se você conversar com várias pessoas que já apresentaram esta virose, poderá classificá-las em três grupos: a. as que tiveram o corpo intensamente coberto de vesículas; b. as que tiveram pouquíssimas vesículas; e c. as intermediárias. Diante desta colocação, construa uma tabela representativa da quantidade de células com capacidade para produzir vírus da catapora nos três grupos.

**CATAPORA**

Do tupi “fogo que salta”. É a designação vulgar para varicela, que é uma virose, em geral, benigna, que, quando expressa sintomas, estes se caracterizam por febre acompanhada de máculas (manchas rosadas), que evoluem para pequenas bolhas ou vesículas que posteriormente arrebentam, surgindo as crostas. Essas lesões se espalham, de forma não sincrônica, pelo corpo, principalmente no tronco.

**RESPOSTA COMENTADA**

*Você acertou se construiu um quadro semelhante a este.*

<i>Proporção de células competentes</i>	<i>Expressão da virose</i>
+++++++-----	<i>Grave</i>
++++-----	<i>Branda</i>
+++-----	<i>Pouco ou nenhum Sintoma</i>
+ células envolvidas no processo de infecção de um órgão ou tecido – células não envolvidas no processo de infecção.	

*As células para produzirem os componentes virais precisam ter a competência enzimática para tal; portanto, só tem virose quem pode. Esta premissa pode ser facilmente evidenciada quando você faz uma busca nos jornais sensacionalistas que divulgam casos de viroses que exterminarão a humanidade. Como exemplo temos os casos de Ebola, SARS e, até mesmo, os da gripe do frango. Você já teve a curiosidade de pesquisar quantas foram as pessoas que entraram em contato com as vítimas, antes que elas morressem? Inclua nessas os familiares, amigos, colegas de trabalho e colégio, vizinhos, comerciantes e os profissionais de saúde que cuidaram delas. Embora seja divulgada uma situação de pânico, os casos graves só aparecem em quem os pode desenvolver. Com o Ebola foram 327 indivíduos como você pode constatar lendo o livro Caçadores de vírus (indicado nas leituras recomendadas). Com a gripe do frango, desde 1997, não chegaram a 100 casos humanos fatais. Já em relação à SARS, morreram pouco mais de 100 pessoas, todas de origem asiática (para conferir estes valores, acesse os endereços eletrônicos que estão indicados nas leituras recomendadas). Para as vítimas fatais dessas viroses, a infecção se apresentou como um processo de seleção natural dos elementos de uma espécie na Natureza.*

### ENZOÓTICO

Enfermidade que está sempre presente em uma comunidade de animais; apenas poucos deles evoluem para doença.

**Ebola** – vírus do grupo dos Filovírus cuja infecção em pessoas susceptíveis provoca um quadro de hemorragia generalizada. O nome Ebola é derivado do nome do rio, no Zaire, às margens do qual fica o vilarejo onde esse tipo de virose foi detectado pela primeira vez. Se você assistiu ao filme *Epidemia* viu, de forma hollywoodiana, algumas das características dessa doença.

**SARS** – Síndrome Respiratória Aguda e Severa – doença que afetou os chineses de etnia originária de províncias do sul da China, resultante da infecção por agentes do grupo dos Coronavirus, em indivíduos susceptíveis.

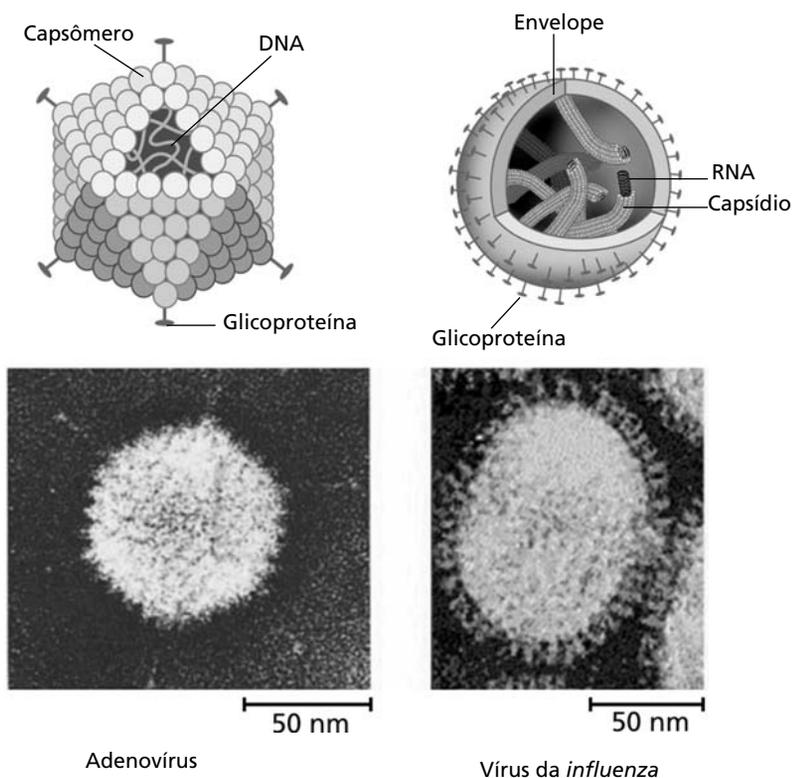
**Gripe do frango** – infecção pelos vírus da *influenza* (gripe subtipo H5N1), de caráter enzoótico nos países asiáticos, que pode ser disseminada por todo o planeta, através das aves silvestres migratórias ou aves comerciais. As vítimas humanas foram pessoas que lidavam com aves contaminadas. Em 2003, na China, foram relatados dois casos hospitalizados, com uma morte. Este fato tem sido motivo de pânico, pois a divulgação da mídia o relaciona com a pandemia de gripe espanhola que ocorreu em 1918, em que se estima terem ocorrido 50 milhões de mortes. De acordo com o discernimento que você adquiriu até agora, de que só tem virose quem pode, dá para perceber que os responsáveis pelas notícias não são virologistas.

## AFINAL, O QUE SÃO VÍRUS?

A melhor maneira de definir os vírus é considerá-los quimicamente. Um vírus é simplesmente um arranjo molecular formado por ácido nucléico recoberto por proteínas, denominadas capsômeros. Estes são agrupados formando uma capa protéica que recebe o nome de capsídio. O conjunto ácido nucléico e capsídio é denominado nucleocapsídio. Muitos tipos virais são formados apenas por esta estrutura. São os chamados vírus não envelopados, para diferenciá-los das partículas virais que têm lipídios associados. Estes são os chamados vírus envelopados, pois a camada lipídica forma um envoltório que recobre o nucleocapsídio. Os lipídios, que compõem o **ENVELOPE** das partículas virais, são originários das membranas das células onde foram produzidas. Na **Figura 15.3** você encontra esquemas representativos de vírus envelopado e não envelopado. Atente para o fato de os Adenovírus à esquerda da figura se apresentarem como uma estrutura geométrica simétrica, enquanto os vírus da *influenza* apresentam-se como uma estrutura arredondada.

### ENVELOPE

Estrutura viral formada por lipídios, antes constitutivos das membranas das células nas quais os vírus foram produzidos. Preparações de vírus envelopados são facilmente caracterizadas, pois, se forem tratadas com agentes lipolíticos (solventes, detergentes), perdem a infecciosidade. Esta característica as diferencia daquelas de vírus não envelopados, pois elas permanecem infecciosas após serem submetidas a esse tipo de tratamento.



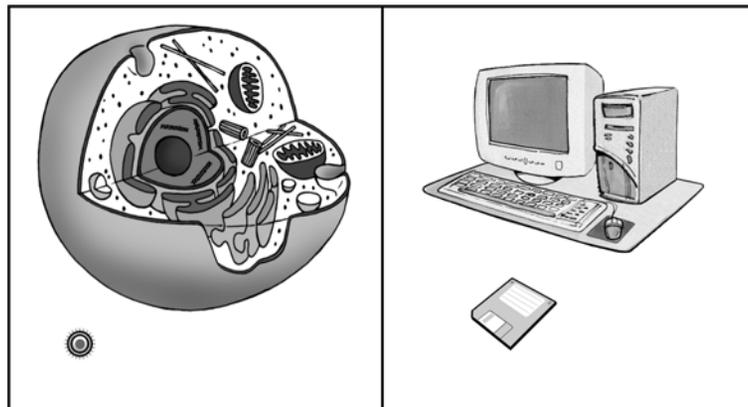
**Figura 15.3:** Na parte superior, representação artística de dois tipos de vírus: um não envelopado à esquerda (Adenovírus) e um envelopado à direita (vírus da *influenza*). Embaixo estão micrografias eletrônicas das respectivas partículas.

Mas preste atenção: quer sejam envelopados ou não, a informação genética contida nos vírus é restrita a um único tipo de ácido nucléico, podendo este ser DNA ou RNA, como você poderá constatar observando a **Tabela 15.1**.

Embora o conhecimento sobre as características dos vírus tenha exigido a participação de células vivas para produzi-los, esta premissa foi alterada após os criativos experimentos efetuados por Molla e colaboradores, publicados em 1991 na revista *Science*. Esses autores demonstraram que partículas virais podem ser produzidas por processos bioquímicos *in vitro*. *In vivo*, esta produção só ocorre quando o ácido nucléico viral atinge o interior de uma célula com a maquinaria enzimática capaz de atender à replicação das informações genéticas nele contidas, e traduzi-las em proteínas.

Para se compreender o fenômeno da interação vírus-célula, basta fazer uma analogia com o processo envolvendo um computador e um disquete: se você examinar um disquete minuciosamente, verá que a película magnética onde são gravadas as informações está coberta por uma capa rígida, que faz lembrar a capa protéica que protege o ácido nucléico viral. Se o disquete estiver coberto por um invólucro, este pode representar a camada lipídica presente em alguns tipos de vírus, à qual é dado o nome de envelope.

Complementando a analogia, a **Figura 15.4** sugere que, se o computador estiver desligado e você colocar o disquete, nada acontece. Da mesma forma, célula morta não é infectada. Mas, se estiver ligado, o conteúdo do disquete é examinado. Entretanto, para que o arquivo seja interpretado, é necessário que o computador tenha o programa para tal. Na célula, esse programa (*software*) corresponde ao repertório enzimático.



**Figura 15.4:** Comparação das relações computador/disquete X célula/partícula viral.

O disquete com o arquivo, pelas suas próprias características, é incapaz de executar qualquer instrução; e os vírus, tal qual o disquete, contêm o conjunto de informações a serem executadas pelas enzimas celulares.



### ATIVIDADE

2. As partículas de Adenovírus, quando observadas ao microscópio eletrônico, se apresentam como arranjos moleculares geométricos. Procure na *web* quantas faces triangulares compõem essa estrutura e, usando sua criatividade, construa uma estrutura geométrica semelhante.

---



---



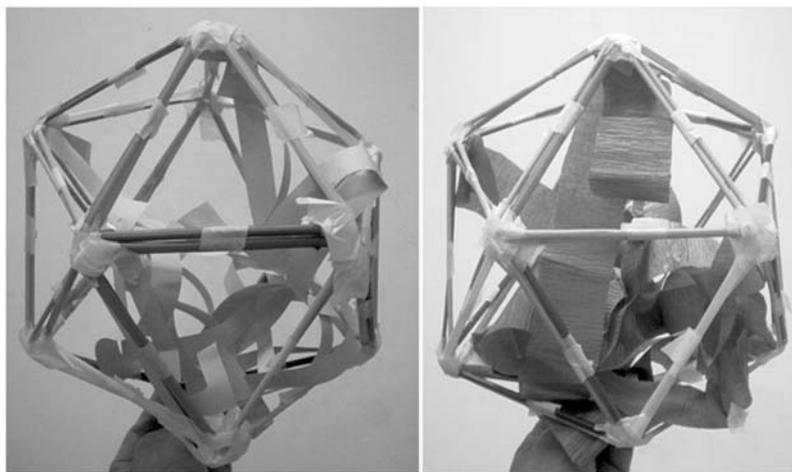
---



---

### RESPOSTA COMENTADA

*Os Adenovírus são formados por vinte faces triangulares. Portanto, você deve ter montado um belo icosaedro. Que material você usou para isso? Talvez tenham sido canudinhos de plástico e, se você foi criativo, ainda colou uma fita de papel crepom por dentro, representando o ácido nucléico. Compare sua criação com a que está na foto, tirada de atividade desenvolvida em uma sala de aula de um curso de capacitação de professores de ensino médio realizado na UFRJ.*



## BIOSSÍNTESE DOS COMPONENTES VIRAIS

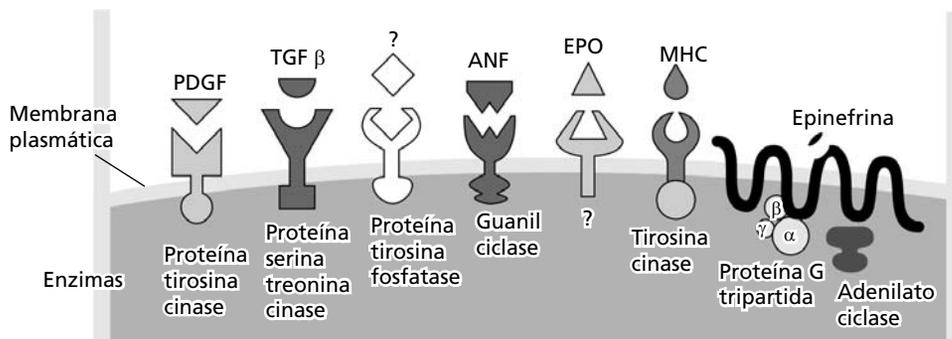
De uma maneira geral, o processo de produção de vírus nas células de animais obedece a uma seqüência de eventos, que inclui:

- os estágios iniciais de interação que correspondem à adsorção e ao engolfamento das partículas pelas células;
- internalização do genoma viral;
- reconhecimento desse genoma pelas células para os processos de replicação, transcrição e tradução;
- aprovação das proteínas neoformadas pelo controle de qualidade da célula;
- reunião dos componentes virais sintetizados e montagem das partículas.

Esta última etapa acontece no ambiente intracelular, quando se trata de vírus não envelopados. A montagem dos vírus envelopados se faz durante o processo de brotamento das estruturas virais para o meio exterior. Quando o brotamento acontece, as partículas virais liberadas trazem em sua constituição fragmentos ou porções lipoglicoprotéicas das membranas das células nas quais foram produzidas.

A primeira parte da interação vírus-célula tem início com a adsorção dos vírus às células. Este fenômeno acontece no ambiente aquático onde as células estão imersas. Se neste ambiente existirem partículas virais, elas estarão em suspensão na água e em constante movimento (movimento browniano). Por sua vez, a célula viva, buscando suprir suas necessidades de elementos essenciais (vitaminas e aminoácidos), expõe receptores com a finalidade de capturar tais elementos, como você pode ver esquematicamente na **Figura 15.5**. Com isto, propositalmente, a célula “espera” capturar os aminoácidos que lhe são essenciais. Estes, que geralmente estão associados em peptídios, podem estar fazendo parte de componentes da superfície viral. Dessas circunstâncias resulta a adsorção ou, em outras palavras, a captura das partículas virais pela célula.

Em qualquer tipo de suspensão, as partículas estão em eterno movimento, devido ao choque das partículas com as moléculas do meio onde elas estão suspensas. A primeira observação desse movimento é atribuída ao inglês Robert Brown (1773-1858). Em sua homenagem, foi dado ao fenômeno o nome de movimento browniano.



**Figura 15.5:** Representação esquemática de vários tipos de receptores exibidos na superfície celular.

Fisiologicamente, esse processo celular voluntário de captura pode ser percebido, pois as proteínas receptoras, em função de suas **ESTRUTURAS TRANSMEMBRANA**, sinalizam para proteínas que estão posicionadas na face interna da membrana plasmática – principalmente aquelas conhecidas pelo nome de **CLATRINAS** – pois são estas que vão promover o engolfamento do material aprisionado na superfície. O engolfamento resulta na formação de uma vesícula coberta de clatrina, em cujo interior o material capturado está contido. A participação das clatrina é a evidência indicativa de que a célula pegou o material, no caso uma partícula viral, porque necessitava fazê-lo para suprir suas necessidades metabólicas.

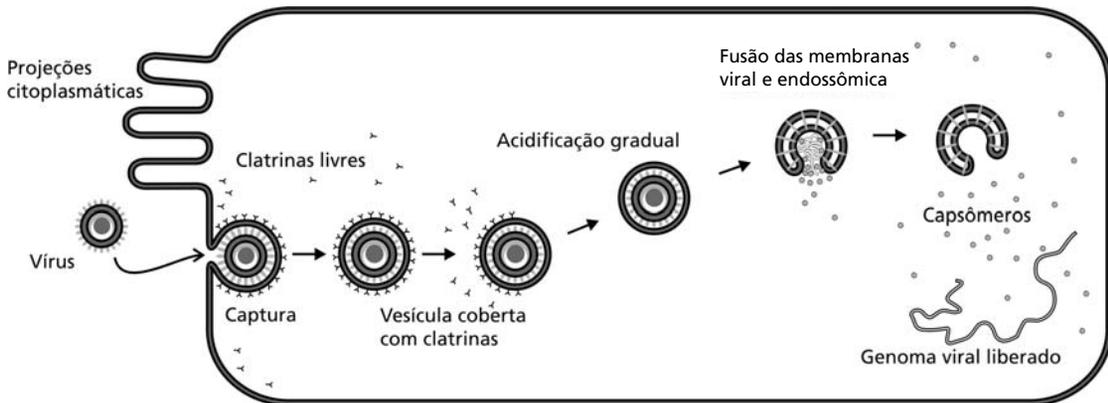
A vesícula contendo a partícula viral é liberada das clatrina e carregada para regiões mais internas da célula. Durante este percurso, ocorre acidificação gradual do interior da vesícula. A acidez promove modificações estruturais nas proteínas de superfície da partícula viral que resultam na fusão destes componentes com a membrana da vesícula. Dessa fusão ocorre a transferência do material genético viral para o interior do citoplasma e a fixação dos componentes da superfície viral na membrana da vesícula; porém, pelo lado onde estão os elementos externos da célula. Detalhes das etapas desta seqüência de eventos celulares você pode ver esquematizados na **Figura 15.6**.

**ESTRUTURAS TRANSMEMBRANA**

Parte das proteínas, formada por seqüências de aminoácidos hidrofóbicos, que fica fixada nas membranas celulares.

**CLATRINAS**

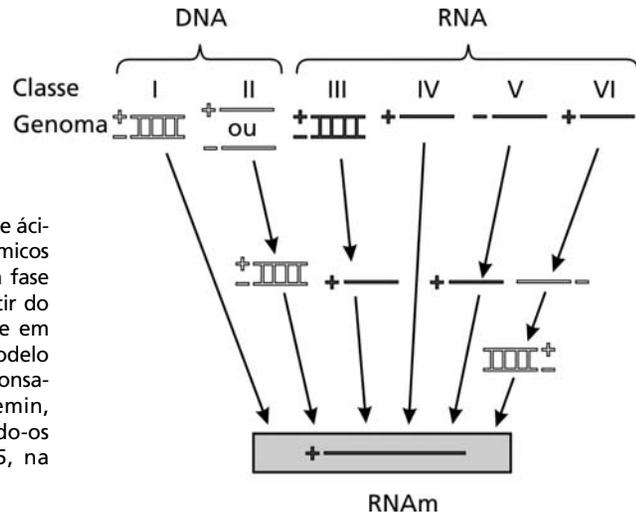
Do grego *clathri*, que significa grade, são proteínas encontradas na fase interna da membrana plasmática das células. A função das clatrina é formar uma grade protéica cobrindo as vesículas que as células constroem para transporte de produtos.



**Figura 15.6:** Esquema mostrando o engolfamento de uma partícula viral pela célula, pelo processo de endocitose mediada por receptores. É dessa maneira que as células do corpo humano capturam os nutrientes.

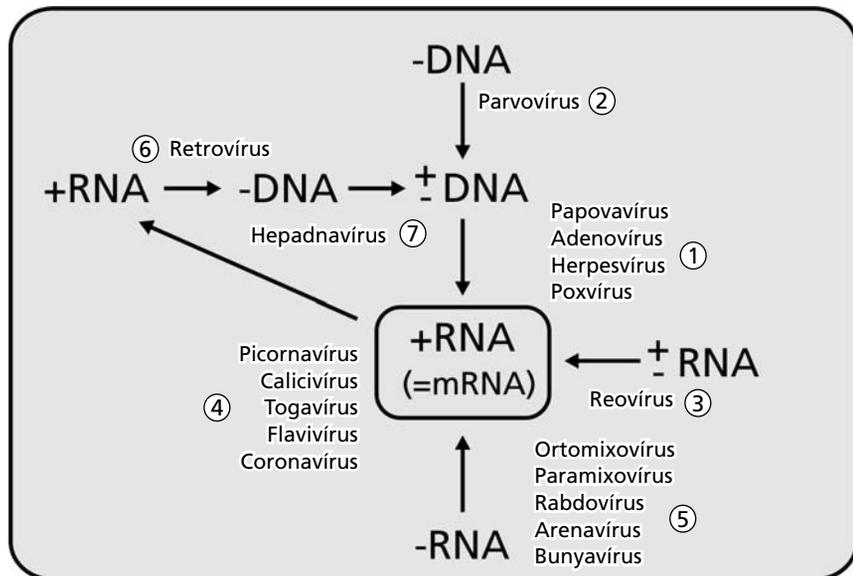
## Transcrição

O material genético viral, no interior da célula, precisa ser submetido aos processos de replicação, transcrição e tradução. A seqüência desses eventos depende do tipo do ácido nucléico viral (DNA ou RNA), das características dos filamentos desses genomas, que podem ser simples ou duplos, e da polaridade dos mesmos. Esta última característica é relacionada aos genomas de RNA. Os vírus com genoma de RNA ainda podem ser subdivididos em quatro classes, como você pode observar na **Figura 15.7**. Aqueles das classes 5 e 6 têm enzimas do tipo transcriptase integrando os seus componentes genômicos. Estas transcriptases utilizam como substrato os RNAs genômicos virais. Podem ser de duas categorias: quando se trata de uma RNA polimerase RNA dependente, essa enzima executa a síntese de novas fitas de RNA, a partir das originais. Todavia, quando se trata de enzimas com atividade DNA polimerase RNA dependente, estas recebem a denominação de transcriptases reversas. Este tipo de enzima caracteriza os retrovírus, sendo os representantes mais conhecidos deste grupo os vírus da imunodeficiência humana adquirida (HIV).



**Figura 15.7:** Esquema mostrando os tipos de ácidos nucleicos virais e os processos bioquímicos a que são submetidos pelas células, até a fase de RNAm. Esta figura foi adaptada a partir do modelo apresentado por David Baltimore em 1970. A repercussão dos estudos com o modelo de replicação de ácidos nucleicos virais consagrou os virologistas Howard Martin Temin, Renato Dulbecco e D. Baltimore, fazendo-os ganhadores do Prêmio Nobel de 1975, na categoria de Fisiologia e Medicina.

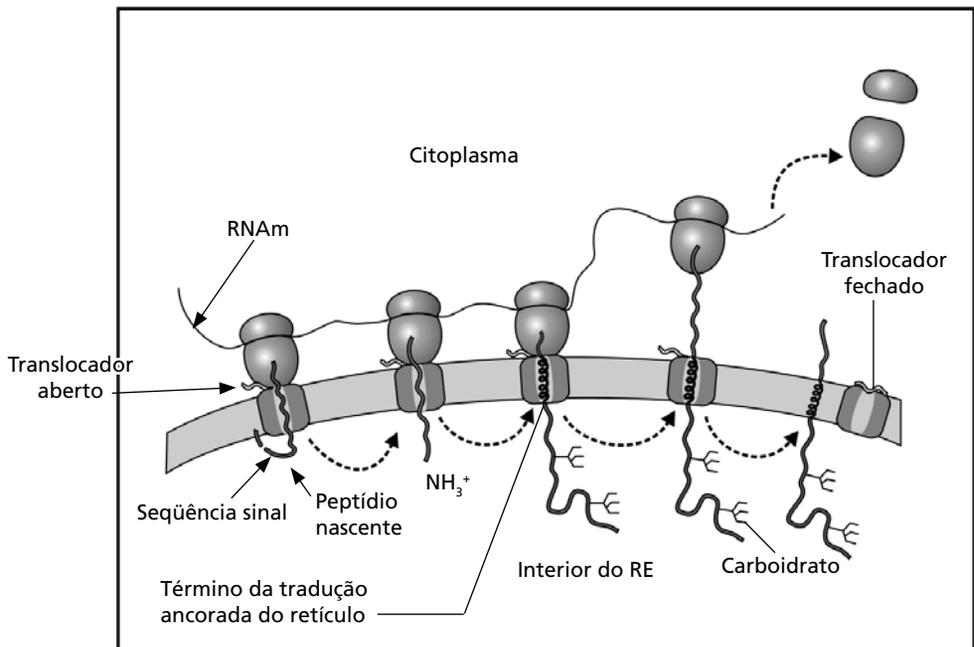
O avanço nas tecnologias de ácidos nucleicos teve como base as informações decorrentes dos estudos sobre replicação dos diferentes tipos de genomas. Esse avanço também contribuiu para aprofundar o conhecimento sobre os vários modelos com os quais os ácidos nucleicos virais são processados nas células. Esses estudos também repercutiram numa maior compreensão dos processos moleculares relacionados com a Fisiologia Celular. Desta feita, quando você estudou Biologia Molecular, deve ter sido bombardeado com informações oriundas do conhecimento virológico. Na **Figura 15.8**, lhe são apresentados sete modelos de replicação, e não seis, como mostrado na **Figura 15.7**. A diferença deve-se à cronologia dos eventos científicos. Os tipos virais relacionados ao sétimo modelo (vírus da hepatite B) só tiveram o modelo de replicação caracterizado na década de 1980. Em função desses sete modelos de replicação de ácido nucleico viral, os estudos efetuados continuamente pelos virologistas possibilitaram agrupar os vários tipos de vírus de interesse na Medicina humana de acordo com estes parâmetros moleculares.



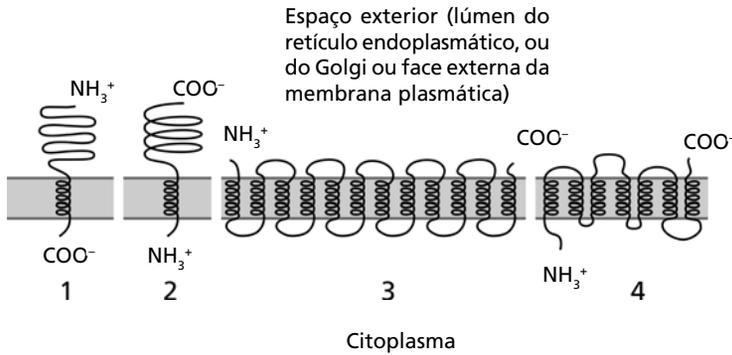
**Figura 15.8:** Representação dos vários tipos de vírus agrupados de acordo com o modelo de replicação de seus genomas. Atente para o fato de que os vírus de DNA de fita dupla podem ser de classe 1 ou classe 7.

## Tradução

O processo celular de tradução dos RNAs virais que codificam para síntese de proteínas segue os mesmos padrões de biossíntese dos outros componentes celulares. A síntese de proteína pode ser efetuada tanto por polirribossomas livres no citoplasma quanto por polirribossomas ligados à membrana do retículo endoplasmático. Os primeiros são responsáveis pela produção de proteínas que ficarão distribuídas no ambiente interno do citoplasma, enquanto os últimos estão envolvidos com a produção de glicoproteínas (Figura 15.9). A incorporação de carboidratos às moléculas de proteína é um sinal de que estas serão inseridas na face externa das membranas celulares. As proteínas assim inseridas podem estar ancoradas na face exterior das membranas, ou posicionadas como estruturas transmembrana. As proteínas transmembrana apresentam a porção glicosilada voltada para o meio exterior e a face não glicosilada voltada para o ambiente citoplasmático, como você pode ver na Figura 15.10. Dessa forma, você pode entender que as duas faces da membrana, pelas suas características, podem ser distinguidas como face externa (glicosilada) e face interna, não glicosilada, que está em contato com as demais proteínas citoplasmáticas desprovidas de glicosilação.



**Figura 15.9:** Produção celular de glicoproteínas. Note que a porção glicosilada está voltada para o lúmen do retículo. Os ribossomos envolvidos nesta tradução dão à estrutura do retículo o aspecto rugoso.



**Figura 15.10:** Representação artística dos modelos como as proteínas transmembranas podem estar posicionadas em relação à superfície celular, no que diz respeito a seus terminais aminados ou carboxilados. Glicoproteínas utilizadas pelas células para a montagem dos vírus da *influenza* (gripe), da raiva, da dengue e da varíola, apresentam características estruturais relacionadas, respectivamente, aos modelos 1, 2, 3 e 4 desta figura.

## Controle de qualidade

Quando as proteínas codificadas pelo genoma viral são sintetizadas e aprovadas pelo controle de qualidade celular, elas são transportadas para sítios específicos das células, de acordo com os sinais de endereçamento que apresentem, dando assim continuidade à formação de novas partículas virais. Quando a célula, embora contaminada, reprova as proteínas neoformadas codificadas pelo genoma viral, estas são degradadas para reaproveitamento dos aminoácidos, particularmente daqueles essenciais. Esta degradação protéica acontece em estruturas celulares denominadas **PROTEASSOMAS**. Quando a degradação é completa, todos os aminoácidos (por estarem individualizados) são reaproveitados. Lembre-se de que cada RNA transportador carrega apenas um aminoácido correspondente ao seu anticodon. Porém, quando a degradação é incompleta sobram pequenos peptídios (resíduos com pelo menos três aminoácidos) que, por não poderem ser aproveitados pela célula, são exocitados. Esta etapa da fisiologia celular é essencial para a compreensão das alterações da **HOMEOSTASE** corporal decorrentes da virose. Mas isto será mais bem compreendido quando você tomar conhecimento do conteúdo da nossa Aula 17.

**Sinais de endereçamento** – são seqüências específicas de aminoácidos encontradas na estrutura das proteínas. Essas seqüências são detectadas pelos elementos celulares denominados Partículas Reconhecedoras de Sinal (PRS). As PRS têm a função de reconhecer e carrear as proteínas neoformadas para os diferentes sítios celulares. Por exemplo, sinais de endereçamento das proteínas para inserção nas membranas do retículo do Golgi, das mitocôndrias ou do ambiente intranuclear já foram descritos. Mais detalhes a respeito você pode ver nos capítulos 17 e 18 sobre síntese e endereçamento de proteínas, do livro *Molecular cell biology*, nas referências desta aula.

## PROTEASSOMAS

Estrutura celular cilíndrica oca, constituída por um agregado de proteases, responsável pela degradação das proteínas celulares identificadas como impróprias ao ambiente citoplasmático. São aquelas proteínas com “prazo de validade vencido”, ou aquelas que não passaram no controle de qualidade. O controle de qualidade das proteínas pelas células segue cinco parâmetros, a saber: 1. o posicionamento das pontes dissulfeto formadas; 2. a conformação das estruturas secundária e terciária adquirida pela molécula de proteína; 3. a adição e o processamento de carboidratos; 4. exposição de sítios específicos para clivagem proteolítica e 5. compatibilidade das moléculas das proteínas para serem organizadas sob a forma de dímeros, trímeros, tetrâmeros ou pentâmeros.

## HOMEOSTASE

Termo criado pelo fisiologista americano Walter Cannon (1871-1945) para designar o estado de equilíbrio das diversas funções e composições químicas do corpo (por exemplo; temperatura, pulso, pressão arterial, taxa de açúcar e elementos figurados no sangue).

### INTERFERONS

Proteínas liberadas pelas células, como parte do processo fisiológico de anabolismo, que as auxilia na competição por nutrientes no corpo dos animais. Foram descritas pela primeira vez em 1957, associadas com o processo de virose. Por isso, durante muito tempo, acreditou-se ser uma proteína produzida pelas células como antiviral. Mas, como você já pode deduzir, a virose é acompanhada de um processo de anabolismo celular. Portanto, toda célula em anabolismo libera IFN. De acordo com o tipo de célula onde são produzidos, os IFNs são denominados como interferon alfa, beta ou gama.

### Exocitose de resíduos da digestão proteossomal

Nas células onde os componentes virais sintetizados foram reprovados e que, depois da digestão proteossomal, ainda restaram peptídios com, pelo menos, três aminoácidos, estes peptídios são excitados, ou seja, são removidos do citoplasma e transportados para a parte externa da membrana plasmática pelos componentes do MHC de classe I, atividade celular apresentada na disciplina Imunologia, sendo que esses peptídios passam a ser designados como epitopos. Dentro do corpo de um animal, a apresentação de epitopos associados aos MHC de classe I das células suscita o envolvimento de linfócitos  $T CD_8^+$ , que promovem a morte destas células. Os linfócitos assim ativados entram em processo de mitose, que resulta na expansão clonal. O aumento populacional dos linfócitos se dá graças aos nutrientes que eles retiram do ambiente corporal. Dentre estes nutrientes estão incluídos os aminoácidos essenciais, as vitaminas, a glicose e os hormônios. Dos hormônios, a insulina permite o aproveitamento da glicose. Para assegurar a disponibilidade dos nutrientes, os linfócitos liberam citocinas, sendo uma delas definida como INTERFERON (IFN), que, atuando sobre as outras células não linfocitárias, faz com que estas reduzam a atividade de síntese protéica e, assim, diminua a quantidade de receptores para a captura de nutrientes. Quanto mais células contaminadas expressarem epitopos, maior será a população de linfócitos envolvida na produção de interferon. Quanto maior for a concentração de IFN circulante, maior será a disfunção apresentada pelos tecidos ou órgãos do corpo. Desse grau de disfunção resultam, proporcionalmente, os sintomas apresentados pela pessoa infectada. Você já deve ter experimentado esses sintomas: febre, dor de cabeça, dores musculares, prostração, dificuldade de concentração, falta de apetite e outros que você pode lembrar, quando desenvolveu uma virose sintomática como, por exemplo, gripe, catapora ou dengue, entre outras.

### ATIVIDADE



3. Esquematize de maneira seqüencial as etapas do processo que resultam em desequilíbrio da homeostase durante um quadro de virose.

---

---

---

---

---

---

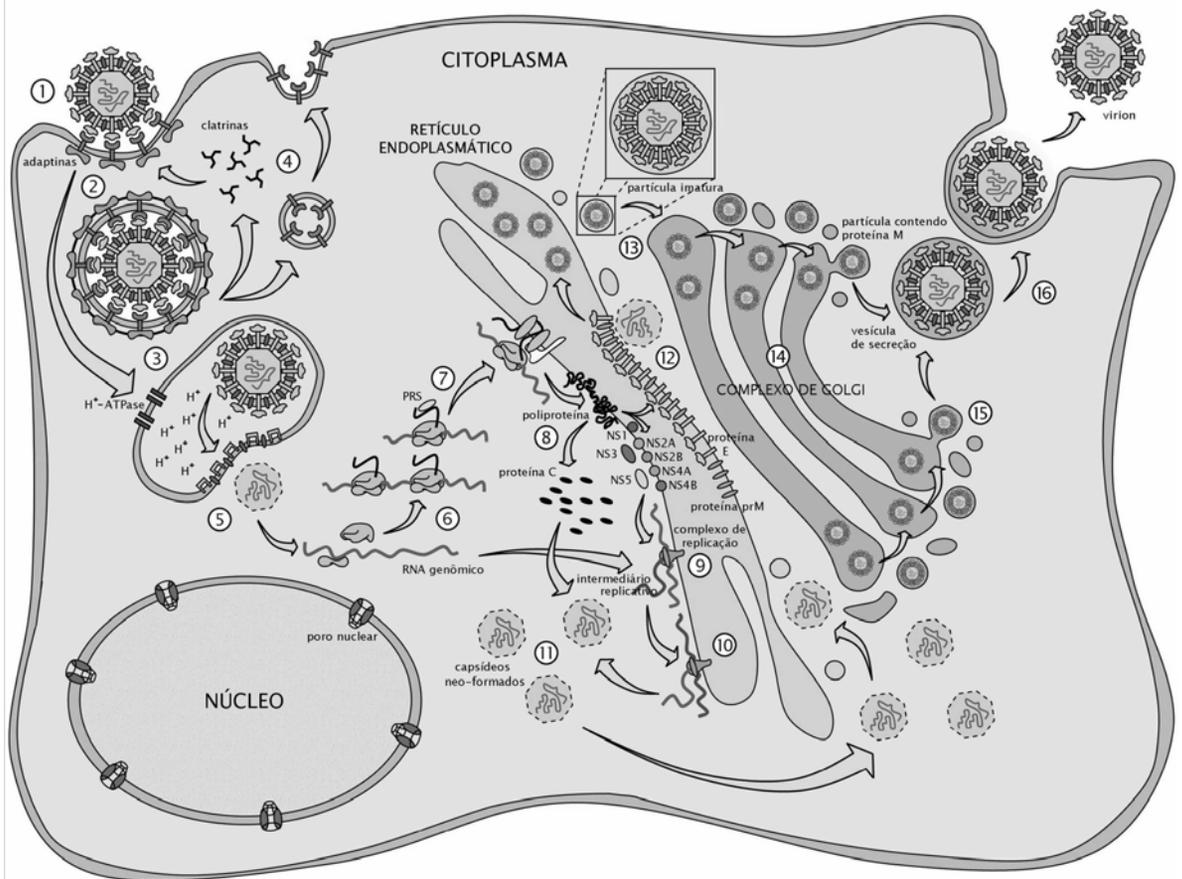
### RESPOSTA COMENTADA

*Você já é capaz de entender que só tem virose quem pode e que a quantidade de vírus produzida é diretamente proporcional ao número de células competentes, presente no corpo do indivíduo. Quanto mais vírus forem produzidos, maior é a chance de ocorrer infecção em células não competentes. Quando a biossíntese das proteínas codificadas pelo genoma viral ocorre nas células não competentes, essas proteínas são reprovadas, e tem início a seqüência de eventos: proteína neoformada reprovada no controle de qualidade → degradação proteossomal → resíduos da degradação proteossomal incompleta → excitose desses*

resíduos para a superfície da célula → reconhecimento desses resíduos por linfócitos citotóxicos ( $CD_8$ ) → estímulo para múltiplas seqüências de mitose → produção de interferon gama → seqüestro de insulina e outros hormônios pelos linfócitos estimulados gerando uma expansão clonal → sintomatologia inespecífica das viroses (febre, dores musculares, dor de cabeça, dentre outros).

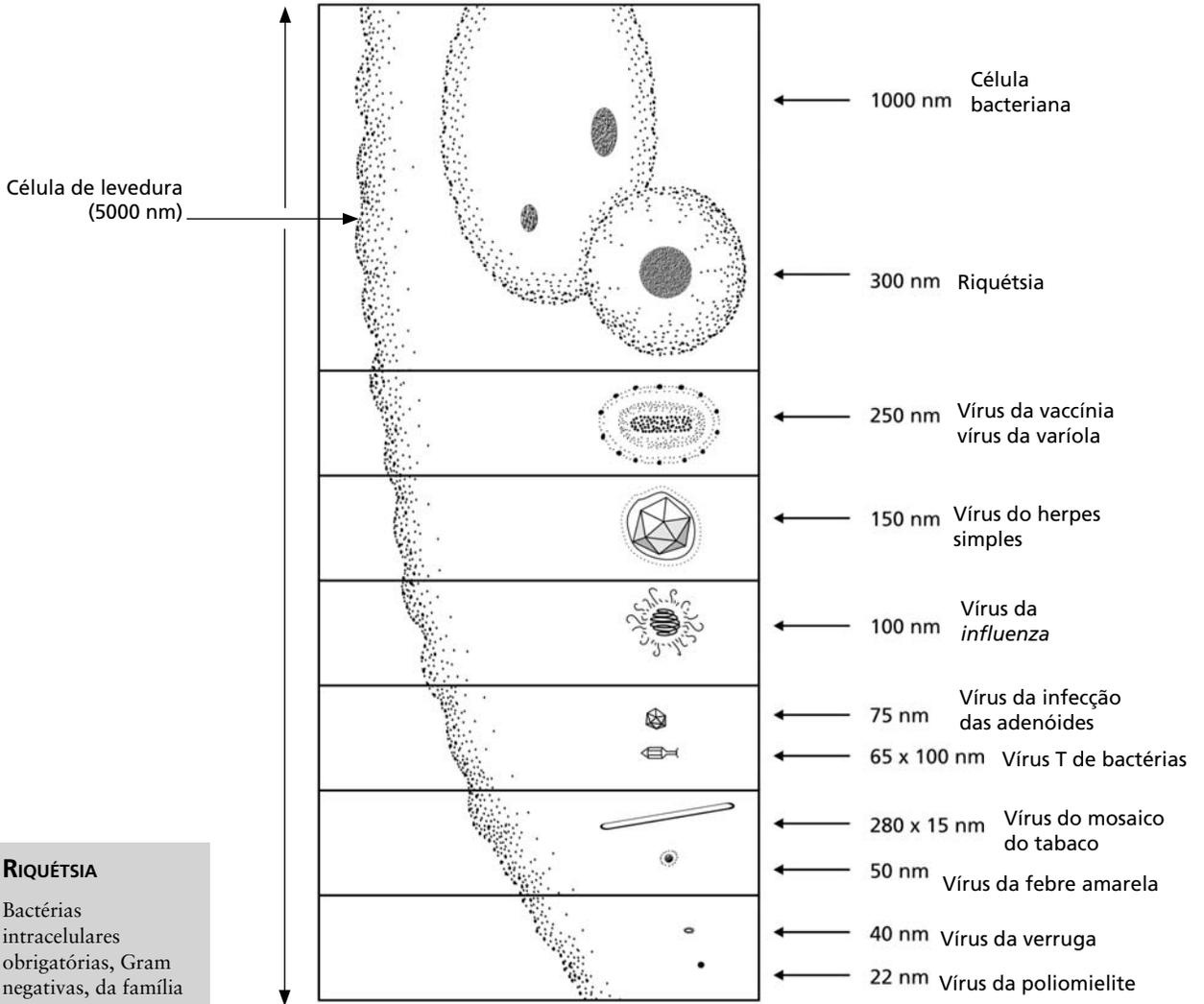
### Montagem e liberação das partículas

O estágio final na produção de vírus consiste na montagem das partículas. Essa montagem pode ocorrer no citoplasma quando se trata de vírus não envelopados. Exemplos destes são os vírus da poliomielite e os da hepatite A. A liberação desse tipo de vírus para o meio extra-celular ocorre quando a célula infectada lisa (arrebenta). Entretanto, a liberação de vírus envelopados requer a participação das membranas celulares, por isso a célula deve estar viável para executar este processo. São exemplos de vírus envelopados: os da *influenza*, da dengue, da AIDS, dentre outros. Na **Figura 15.11**, você observa uma representação artística do processo celular de síntese de flavivírus, desde a adsorção até o brotamento das partículas sintetizadas.



**Figura 15.11:** Apresentação artística das etapas seguidas pela célula para sintetizar os componentes estruturais e não estruturais das partículas de flavivírus. (Figura gentilmente cedida pelo mestrando do Instituto de Microbiologia Professor Paulo de Góes, da UFRJ, Otavio de Melo Espíndola).

Na **Figura 15.12**, além das várias formas em que os vírus se apresentam, você tem uma comparação entre os tamanhos de células eucariótica (levedura), procariótica (*E.coli*), outra procariótica (riquétsia) e vários tipos de vírus.



**RIQUÉTSIA**

Bactérias intracelulares obrigatórias, Gram negativas, da família Rickettsiaceae, que infectam artrópodes, como os carrapatos. Estes podem transmiti-las pela saliva ao picarem seres humanos e outros animais. Nos seres humanos estão associadas a diversos quadros clínicos, entre os quais o tifo exantemático e a febre maculosa.

**Figura 15.12:** Tamanhos comparativos entre uma levedura, uma enterobactéria, uma RIQUÉTSIA e partículas virais de várias dimensões. Note que as maiores partículas virais estão na faixa de 250 nm e que essa dimensão é menor que o comprimento de onda da luz visível, como você viu na Aula 1. Esta característica faz com que as preparações contendo vírus continuem límpidas e transparentes. Este fato levou à denominação de meningites assépticas aquelas resultantes de infecção viral, pois, embora o líquido cefalorraquidiano (líquor) dos pacientes infectados esteja cheio de vírus, tem a aparência límpida, em contraste com as meningites microbianas nas quais o líquido aparece turvo.

As características genéticas e estruturais dos vírus relacionados com infecções humanas podem ser entendidas pela análise da Tabela 15.1.

**Tabela 15.1:** Características estruturais dos principais tipos de vírus com exemplos de viroses associadas

Tipo de ácido nucléico	Simetria do capsídio	Envelope lipídico	Sensibilidade aos agentes lipolíticos	Tamanho da partícula viral (nm)	Estruturas do filamento genômico	Exemplos de vírus	Virose associada
DNA	Icosaédrica	Ausente	Resistente	18-26 45-55 70-90	fs fd circular fd	Parvovírus Papovavírus Adenovírus	Exanterna Verrugas Conjuntivite
		Presente	Sensível	100	fd	Herpesvírus	Catapora
	Complexa	Presente	Resistente <sup>1</sup>	230 X 400	fd	Poxvírus	Variola
		Ausente	Resistente	42	fd circular	Hepadnavírus	Hepatite B
RNA	Icosaédrica	Ausente	Resistente	20-30 35-39 60-80	fs fs fd segmentado	Picornavírus Calicivírus Reovírus	Poliomielite Hepatite E Resfriado
		Presente	Sensível	50-70	fs	Togavírus	Encefalite
	Desconhecida ou complexa	Presente	Sensível	45-50	fs	Flavivírus Arenvírus Coronavírus Retrovírus	Dengue Febre junin Pneumonia AIDS
				50-300	fs segmentado		
				80-160	fs		
	Helicoidal	Presente	Sensível	100	fs diplóide		
90-100				fs segmentado	Buniavírus Ortomixovírus Paramixovírus Rabdovírus	Febre Gripe Crupe Raiva	
80-120				fs segmentado			
150-300	fs						
75 X 180	fs						

Legenda: Fs – fita simples; Fd – fita dupla; 1- envelope complexo, que confere a esses vírus resistência aos agentes lipolíticos.

## PROPAGAÇÃO DE VÍRUS

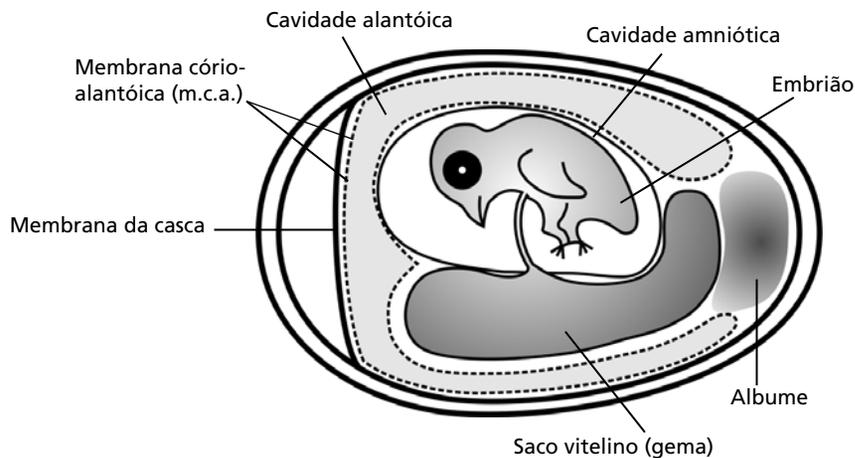
Agora que você já está consciente de que os vírus são produtos celulares, é fácil entender que, se quisermos obter vírus para diversos tipos de experimentos, vamos precisar propagá-los e, para isso, usamos células cultivadas em laboratório. Essas células podem estar fazendo parte do corpo de animais, em diferentes estágios evolutivos (embrionário, recém-nascido, jovem ou adulto), ou sendo cultivadas *in vitro*. A inoculação em animais requer o uso de um infectório que assegure condições de segurança que evitem fuga dos animais e

contaminação do ambiente e do operador. Os animais de experimentação podem ser de pequeno, médio ou grande porte. Dentre os mais usados, temos os camundongos recém-nascidos.

Após inoculados, os efeitos da virose se apresentam como doença, o que pode levar o animal à morte ou não. Se sobreviverem, são sacrificados para análise histopatológica.

Animais em fase embrionária são utilizados para a inoculação de vírus para produção de vacinas contra a gripe e contra a febre amarela. Nestes casos, o sistema biológico utilizado é o ovo embrionado de galinha. Depois de inoculados com vírus da gripe, após a incubação, é recolhido o líquido das cavidades do ovo, onde os vírus produzidos ficam acumulados. No caso da vacina contra a febre amarela, recolhe-se o embrião, que depois é triturado e centrifugado. Dessa centrifugação o sobrenadante é diluído e passa a constituir o produto vacinal. Por isso a vacina não é recomendada para quem tem alergia a ovo.

Na **Figura 15.13** você pode observar uma representação esquemática da anatomia de um ovo embrionado.



**Figura 15.13:** Esquema representativo de um ovo embrionado de galinha.

Com o desenvolvimento das metodologias de cultura de células *in vitro*, foi possível esclarecer muitos aspectos da dinâmica de produção de vírus. Quando células competentes são infectadas e passam a produzir os componentes virais, conseqüentemente mudam de função. A mudança de função implica mudança da forma. Os primeiros virologistas que observaram este tipo de alteração morfológica o denominaram efeito citopático (**CPE**), conceito decorrente do conhecimento vigente no final da década de 1940. Esse binômio forma-função permite caracterizar a Virologia como uma fisiologia celular aplicada. A forma apresentada pelas células, após a infecção viral, varia de acordo com o tipo de vírus que elas estão produzindo. Na **Figura 15.14**, você pode ver as alterações morfológicas em células com virose. Dentro deste princípio, genomas virais são usados como **VETORES DE EXPRESSÃO** em procedimentos de Biologia Molecular.

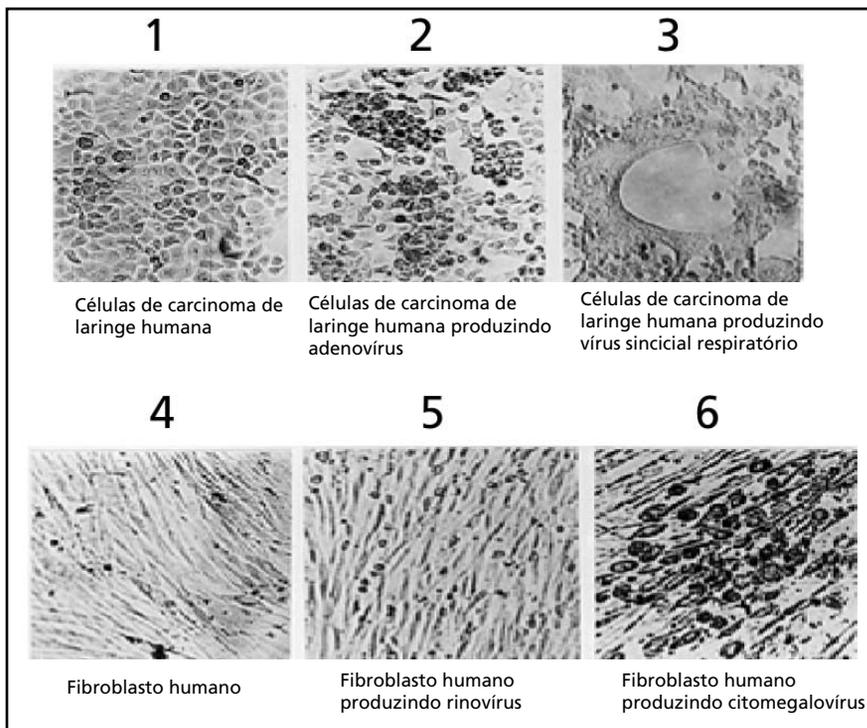
A observação microscópica de células em cultura inoculadas com suspensões virais permite, através de comparação com células não inoculadas, estabelecer as alterações fisiológicas que nelas ocorrem. As partículas virais são utilizadas como traçadores. Várias áreas de conhecimento, tais como a Bioquímica e a Imunologia, dentre muitas outras, utilizam os vírus como ferramenta para esclarecer vários fenômenos fisiológicos, principalmente aqueles relacionados à síntese e ao endereçamento das proteínas para os vários compartimentos celulares.

## CPE

Sigla do termo em inglês *Citopathogenic Effect* que significa efeito citopático (em português ECP, pouco usado). Os trabalhos que permitiram reconhecer este fenômeno levaram seus autores J. F. Enders (1897-1985), T. H. Weller (1915-) e F. C. Robbins (1916-2003) a serem agraciados com o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina de 1954.

## VETORES DE EXPRESSÃO

São pequenos fragmentos de ácido nucléico que, quando incorporados ao genoma das células, suscitam a produção de componentes protéicos. As proteínas assim formadas se prestam como traçadores dos processos metabólicos celulares.



**Figura 15.14:** Dois tipos de células cultivadas *in vitro* não infectadas (1 e 4) e infectadas. A figura apresenta as alterações morfológicas (CPE) das células de acordo com a função desempenhada. A cada tipo de vírus corresponde uma função diferente, que se reflete na forma.

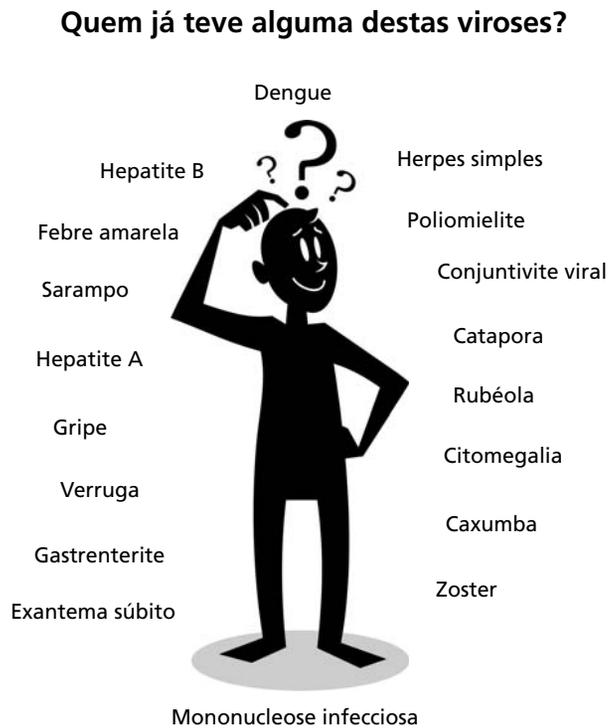
## VIROSES

Vírus + ose. O sufixo *ose* denota o conceito de muito, cheio de. Portanto, quando uma célula ou um organismo pluricelular está infectado e produzindo vírus, dizemos que está com virose.

O corpo humano, como exemplo de sistema fechado, quando acometido de uma virose apresenta sinais e sintomas característicos.

Cada indivíduo tem um perfil metabólico diferente, por isso expressa suas viroses de modo diferente, que variam desde a forma assintomática àquelas letais. Este fato é portanto compatível com a expressão: "só tem virose quem pode e como pode".

Na **Figura 15.15**, são apresentados alguns tipos de viroses com as quais você já pode ter se contaminado ou vir a se contaminar no futuro. Por quais delas você já passou?



**Figura 15.15:** Algumas viroses que fazem parte do seu cotidiano.



### ATIVIDADE

4. Como podem ser efetuados os trabalhos de propagação dos vírus de origem animal no laboratório, e como pode ser evidenciada essa propagação?

---



---



---

### RESPOSTA COMENTADA

Você deve ter respondido a esta questão usando uma descrição contemplando os seguintes itens:

Sistema biológico empregado	Evidenciação da virose
Animais de biotério em diferente estágio evolutivo	Sintomas, morte, histopatologia
Ovos embrionados	Detecção dos componentes virais
Cultura de células	Alterações morfológicas e fisiológicas

No estudo das viroses humanas, os animais foram os primeiros sistemas biológicos a serem utilizados experimentalmente, substituindo aqueles humanos que se apresentavam como voluntários para experimentação. O emprego de ovos embrionados de galinha teve início em 1933. Estes sistemas vêm sendo substituídos gradualmente pelas culturas de células, em razão da facilidade que esta tecnologia oferece, e em virtude das implicações éticas referentes ao uso de animais.

### CONCLUSÃO

Os vírus são produtos celulares. Virose só tem quem está vivo e possui células com repertório enzimático capaz de promover a síntese dos vários componentes do tipo viral com o qual foi contaminado. Pessoas acometidas com viroses podem apresentar quadros brandos, graves ou até fatais, mas na grande maioria, as viroses são assintomáticas. Exemplo destas acontecem em pessoas que têm, sob a forma crônica, infecções por HIV, HTLV, Hepatite B, Hepatite C. Outras formas assintomáticas podem ser induzidas por infecções naturais ou por preparações vacinais infecciosas. Como exemplo destas últimas, podem ser citadas: a vacina

oral contra a poliomielite e aquelas aplicadas por via parenteral contendo vírus do sarampo, da caxumba e da rubéola. Embora a maioria da população tenha sido vacinada, em algumas pessoas essas infecções vacinais evoluem para quadros sintomáticos que podem se apresentar de forma branda, grave ou até mesmo letal.

### ATIVIDADE FINAL

Agora vamos ver se você já está pensando como virologista, ou seja, como alguém que consegue trafegar por dentro da célula sem esbarrar em nada. Afinal, viroses só acontecem em células vivas; portanto, os virologistas têm de ter amplo conhecimento de Fisiologia Celular.

O desafio consiste em considerar a seguinte situação: uma cultura de células foi inoculada com uma preparação de vírus da caxumba. Estes são vírus envelopados que, portanto, carregam fragmentos de membrana plasmática das células onde foram produzidos. Na superfície destes vírus encontram-se espículas formadas por trimeros de glicoproteínas transmembrana. Considerando que esse tipo de vírus tem a replicação do genoma, de acordo com o modelo da classe 5 de Baltimore, descreva, de forma seqüenciada, os processos fisiológicos efetuados pelas células que possibilitam a produção de novas partículas virais. Considere a cultura de células como sendo formada totalmente por células competentes para tal função.

---

---

---

---

#### **RESPOSTA COMENTADA**

*Sem dúvida, tudo começa pela captura dos vírus pelas células. A seguir ocorrem as fases:*

- *formação de endossomos;*
- *fusão dos componentes de superfície virais com a membrana dos endossomos;*
- *liberação do genoma viral no citoplasma;*

- o genoma dos paramixovírus tem associadas enzimas do tipo RNA polimerase RNA dependente (transcriptase) que transformam o RNA de polaridade negativa em RNA mensageiro;
- este, por sua vez, é utilizado pelas células para sintetizar novas proteínas virais, que são aprovadas no controle de qualidade celular (visto que estamos tratando de células competentes);
- parte das proteínas neoformadas atuará como transcriptase amplificando a quantidade de RNAs virais, positivos e negativos, dentro das células;
- outras proteínas neoformadas serão utilizadas como peças estruturais na montagem de novas partículas. Para tanto, precisam ser posicionadas, nas células, de acordo com seus respectivos sinais de endereçamento;
- aquelas destinadas à formação das espículas virais são traduzidas por ribossomos que se fixarão ao retículo endoplasmático, dando origem ao chamado retículo endoplasmático rugoso. A cadeia peptídica que é transferida para a luz do retículo sofre uma seqüência progressiva de glicosilação, dando origem às glicoproteínas, que serão submetidas ao processo de clivagem proteolítica pós-traducional, quando passam a exibir os sinais de endereçamento que as faz serem transportadas para a membrana plasmática;
- nesse sítio, essas proteínas transmembrana estão aptas a interagir, através da porção citoplasmática, com os demais componentes virais sintetizados pelas células (capsômeros e ácido nucléico), que foram deslocados para a proximidade da membrana plasmática;
- é nessa região que ocorre a montagem das novas partículas virais, pelo processo de brotamento.

## RESUMO

As bases da Virologia foram estabelecidas em 1892 com o estudo de uma virose vegetal, conhecida como mosaico do tabaco. Nesses estudos foram revelados agentes infecciosos de tamanho tão diminuto que podiam passar pelos poros dos filtros que retinham os micróbios, tinham o tamanho menor do que o comprimento de onda da luz visível, o que fazia os pesquisadores da época pensarem que se tratava de toxinas produzidas pelos micróbios que haviam sido retidos na filtração. A esses produtos foi dado o nome de vírus, que em latim significa toxina ou veneno. Estudos com a febre aftosa de gado bovino, em 1898, comprovaram a natureza infecciosa e não apenas tóxica desses agentes filtráveis. Alguns tipos de suspensões virais, quando purificadas, podem se apresentar sob a forma de cristais. Vírus são

arranjos moleculares que podem ser montados e desmontados tanto *in vitro* como *in vivo*. Neste último caso, as células têm repertório enzimático para sintetizar todos os componentes codificados pelo genoma viral (ácido nucléico e proteínas) e condições para montá-los sob a forma de partículas. Essas partículas, assim formadas, podem conter ou não lipídios derivados das membranas celulares.

### INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

Na próxima aula, você trará conhecimento com viroses de plantas e de células procarióticas, e confirmará a idéia de que todo ser vivo pode desenvolver suas viroses.

### LEITURAS RECOMENDADAS

- REGIS, Ed. *Caçadores de vírus: a luta contra os vírus desconhecidos que ameaçam a humanidade*. Rio de Janeiro: Editora Objetiva, 1997. 248 páginas.
- [http://www.who.int/csr/sars/epi2003\\_04\\_11/en/](http://www.who.int/csr/sars/epi2003_04_11/en/)
- [http://www.who.int/csr/sarscountry/2003\\_04\\_12/en/](http://www.who.int/csr/sarscountry/2003_04_12/en/)

PIZARRO-SUÁREZ Y GAMBA, Enriqueta. *Los Virus – Serie de biología*: monografía nº 8 do programa regional de desarrollo científico y tecnológico do departamento de asuntos científicos da secretaria general de la organización de los estados americanos. Washington, D.C: Ed. OEA, 1971. 67 p.

# Vírus e viroses de plantas e de células procarióticas

## AULA 16

### Meta da aula

Apresentar fenômenos que envolvem tanto as viroses de plantas como as de bactérias.

## objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- explicar o fenômeno da especificidade das viroses para diferentes sistemas biológicos;
- esquematizar um procedimento que permita quantificar a infecciosidade de uma preparação de bacteriófagos;
- relacionar a eficiência de infecção viral com a forma de apresentação das viroses na Natureza;
- definir cultura bacteriana indicadora e lisogênica, em relação às viroses;
- descrever os processos de internalização da informação genética dos vírus nas plantas e nas bactérias.

### Pré-requisitos

Para o entendimento desta aula fluir melhor, você deverá rever a figura dos comprimentos de onda do espectro da luz, vistos na Aula 1; as estruturas das células, apresentadas na Aula 3; a classificação dos micróbios, da Aula 9; o conceito de competência celular para sintetizar componentes virais, além da classificação de Baltimore, que você aprendeu na Aula 15.

## INTRODUÇÃO

Nas plantas e nas bactérias, o protoplasma celular está recoberto por uma estrutura rígida denominada parede. Esta parede é responsável pela morfologia apresentada pelas células e as impede de executar o processo de endocitose. Assim, o modelo de internalização do genoma viral nesses tipos celulares diferencia-se daquele que você aprendeu na aula sobre viroses de animais. Esta aula apresenta os processos físico-químicos que possibilitam a transferência dos ácidos nucléicos, que estão dentro dos vírus, para o interior das células vegetais e bacterianas.

No reino vegetal, a descoberta dos vírus foi decorrente da necessidade de sanear doenças das principais espécies de plantas cultivadas, merecendo destaque a doença conhecida como mosaico do tabaco. Posteriormente, o conhecimento foi ampliado para as lavouras de trigo, arroz, milho e batata. Os efeitos das infecções virais nas plantas apresentam-se como alterações foliares e resultam sempre numa redução acentuada na produção agrícola.

Embora o conceito de virose estivesse sendo construído em função das doenças, o reino vegetal proveu um novo enfoque para a virologia, pois foi demonstrado que as tulipas – normalmente caracterizadas como flores monocromáticas –, quando contaminadas por certos tipos de vírus, passavam a produzir flores policromáticas. Comercialmente, os bulbos destas plantas têm grande valor ou, em outras palavras, dão mais lucro àqueles que os plantam.

A partir destas circunstâncias, a virologia passou a ter dois enfoques na sociedade humana: um associado às doenças que conduzem a prejuízos e outro associado ao melhoramento vegetal que vem acompanhado de lucros. A compreensão das viroses de procariontes serviu como modelo para quantificar partículas virais infecciosas e para esclarecer como se dá a internalização do genoma viral nas células. Historicamente, a utilização de vírus de bactérias, como ferramentas nos trabalhos em Genética e Biologia Molecular, serviu como base para o avanço tecnológico nestes campos.

Com os detalhes aqui apresentados, você sedimentará cada vez mais o conhecimento de virologia iniciado na Aula 15. O conteúdo desta aula está acompanhado de um breve histórico, pois a compreensão dos conceitos da moderna virologia está fundamentada em experimentos efetuados com vírus de plantas e de bactérias.

Nesta aula serão apresentadas, de maneira sucinta, algumas características das viroses de plantas e de bactérias, áreas da virologia que têm contribuído largamente para a compreensão de muitos fenômenos biológicos observados na Natureza.

## BREVE HISTÓRICO DA VIROLOGIA VEGETAL – ONDE TUDO COMEÇOU

Em 1886, Adolf Mayer (1843-1942), um agrônomo alemão especializado em **FITOPATOLOGIA**, trabalhando na Holanda, pesquisava a causa de uma doença da planta do fumo em cujas folhas eram observadas áreas clorofiladas e aclorofiladas, distribuídas com a aparência de mosaico, o que deu origem ao nome da doença (“mosaico do tabaco”). Pensando se tratar de uma doença de origem microbiana, Mayer separou as folhas afetadas, preparou um extrato aquoso dos componentes dessas folhas e usou-o para infectar plantas saudáveis. Em nove de cada dez plantas contaminadas, foram observados todos os sintomas da doença. Mayer então tentou cultivar, de forma pura, o “micróbio” responsável pela doença e, para isso, usou técnicas disponíveis, naquela época, para cultivo bacteriano. Surpreendentemente, essa pesquisa falhou em isolar bactérias ou fungos, apesar de a doença poder ser transmitida como qualquer doença infecciosa. Mayer concluiu que a doença era causada por uma bactéria de natureza especial incultivável, mas que certamente seria revelada no futuro.

Nesse meio tempo, foram produzidos os primeiros filtros esterilizantes (filtros de Chamberland) que tinham os poros de tamanho tão pequeno (cerca de 0,1 a 0,5  $\mu\text{m}$ ), que retinham bactérias (como você viu na Aula 1, os micróbios têm, em média, 1 $\mu\text{m}$ ).

Em 1892, um cientista russo, Dmitri Ivanovsky (1851-1920), que também estudava a doença do mosaico do tabaco, comunicou à Academia de Ciências de São Petersburgo sua constatação de que a seiva das folhas de tabaco, apresentando a doença do mosaico, retinha suas qualidades infecciosas, mesmo após a filtração através do filtro de Chamberland. Ele acreditava que o agente do mosaico do tabaco – que não era cultivável em meio inerte, mas “crescia” nas folhas – era menor do que qualquer outro já descrito. Assim, ele suspeitou de que uma toxina, secretada por algum tipo bacteriano desconhecido, causasse a doença. Seis anos mais tarde, o cientista holandês Martinus W. Beijerinck (1851-1931) repetiu o experimento de Ivanovsky e mostrou que um agente infeccioso, capaz de ser replicado nas folhas, era encontrado nas soluções filtradas a partir de folhas doentes. O cientista chegou à seguinte conclusão: este agente invisível ao microscópico e filtrável podia ser diluído muitas vezes e quando as diluições eram aplicadas nas folhas

### FITOPATOLOGIA

Ciência que estuda as doenças das plantas.

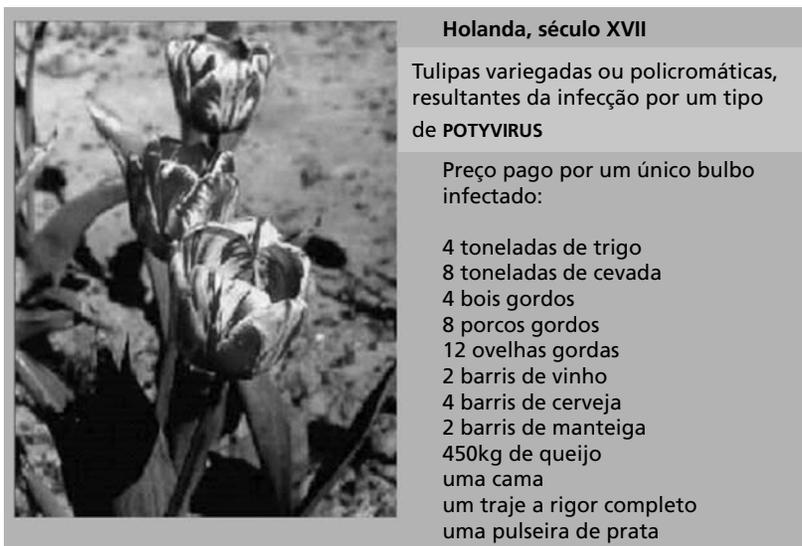
das plantas sadias, podiam provocar infecção. Foi, portanto, o primeiro membro do mundo submicroscópico a ser reconhecido.

Na **Figura 16.1**, você pode observar o tripé representado pelos pesquisadores Mayer (orientador), Ivanowsky e Beijerinck (seus orientados), sobre cujos estudos foram estabelecidas as bases da virologia vegetal. A partir dos eventos descritos nos vegetais, foram se somando achados em animais, surgindo a área de conhecimentos de Virologia, com a qual você está se familiarizando desde a aula passada.



**Figura 16.1:** Mayer, Ivanowsky e Beijerinck: os pioneiros da virologia vegetal.

Mas, sem que ninguém suspeitasse, muito antes de se tomar conhecimento dos agentes filtráveis do Dr. Ivanowsky, a Virologia já fazia parte do cotidiano das pessoas, e gerava lucros astronômicos: na Holanda, no século XVII, as tulipas monocromáticas eram muito apreciadas, mas havia algumas, as policromáticas, que eram bem mais delicadas em termos de produção e durabilidade, e que constituíam fonte de riqueza para os proprietários de seus bulbos. Estes serviam como dote muito disputado entre os noivos. Se tivesse um desses bulbos em mãos, a madrasta da Cinderela não teria tido dificuldade alguma para casar suas filhas, apesar de não lhes servir o sapatinho de cristal. Você pode avaliar isso melhor, analisando a **Figura 16.2**, onde estão apresentadas tulipas policromáticas e os bens que, em caso de troca, equivaliam a um único bulbo delas.

**Holanda, século XVII**

Tulipas variegadas ou policromáticas, resultantes da infecção por um tipo de **POTYVIRUS**

Preço pago por um único bulbo infectado:

4 toneladas de trigo  
8 toneladas de cevada  
4 bois gordos  
8 porcos gordos  
12 ovelhas gordas  
2 barris de vinho  
4 barris de cerveja  
2 barris de manteiga  
450kg de queijo  
uma cama  
um traje a rigor completo  
uma pulseira de prata

**POTYVIRUS**

Tipo de vírus com genoma de RNA que pode infectar uma grande variedade de espécies vegetais, tais como tulipas, mamoeiros e batatas. No *site* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/57010000.htm>, você obterá mais detalhes sobre esses vírus e perceberá que a lista de vegetais suscetíveis à infecção por eles vai de A a Z.

**Figura 16.2:** Tulipas policromáticas infectadas por potyvirus e a lista dos bens que equivaliam ao valor de um único bulbo. Fonte: [www.ufv.br/dfp/virologia/BIO251\\_files/Aula\\_teorica\\_BIO\\_251\\_2005.pdf](http://www.ufv.br/dfp/virologia/BIO251_files/Aula_teorica_BIO_251_2005.pdf)

Hoje sabe-se que a disseminação das viroses de vegetais está relacionada à infecção por uma grande variedade de tipos de vírus, que podem ser transmitidos de uma planta para outra. As viroses são transmitidas por meio de lesões provocadas por instrumentos cortantes contaminados; por esfregaços (abrasão feita na folha da planta com a mão ou com auxílio de areia, de modo a lesar as células, permitindo a inserção de partículas infecciosas no seu interior), ou através de **NEMATÓIDES** ou artrópodes que, ao se alimentarem destas plantas, disseminam a virose. Estes artrópodes podem ser mosquitos, formigas, pulgões ou moscas.

**NEMATÓIDES**

Classe de vermes cosmopolitas, de vida livre, encontrados tanto em ambientes aquáticos quanto no solo. São parasitas encontrados em todos os grupos vegetais e animais, e se distinguem por possuir corpo delgado com forma cilíndrica e disposição radial das estruturas ao redor da boca.

**VIROSES COMO “VACINAS”**

Um benefício atribuído às viroses de plantas é comumente visto, nos pomares de laranjeiras, pois cada uma das árvores ao ser preparada por enxerto, é inoculada com um tipo de vírus que condiciona uma infecção inaparente, crônica, que as protege da infecção aparente pelos **VÍRUS DA TRISTEZA**. Esse processo é chamado de **PREMUNIZAÇÃO** e visa a assegurar a rentabilidade das safras nos pomares.

**VÍRUS DA TRISTEZA**

Vírus relacionado à virose da tristeza dos citros. A infecção acomete os vasos lenhosos, diminuindo o fluxo de água para as folhas que murcham, dando a impressão de que a planta está triste. Depois que as folhas caem, a planta morre.

**PREMUNIZAÇÃO**

Modelo de infecção de plantas de interesse econômico, desenvolvido, na década de 1950, pelos pesquisadores do setor de Virologia do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC)-SP, que consiste em enxertar galhos de plantas que tenham desenvolvido uma forma branda da virose. As plantas assim infectadas resistem à contaminação por amostras virais que levam à doença letal e, dessa forma, evitam a tristeza do citros (na verdade, o mais próprio seria dizer tristeza do citricultor, pois o efeito arrasador leva a um imenso prejuízo).

Se você já viu uma plantação de laranjeiras, muito comum no interior de São Paulo ou Minas Gerais, percebeu que todas as frutas amadurecem simultaneamente. Isto acontece porque todas elas são irmãs gêmeas do caule para cima, e diferentes do caule para baixo. Ops! Você deve estar se perguntando como isso é possível? Muito simples: isso só é possível porque a laranjeira é uma planta enxertada. O processo de enxertia em citros consiste basicamente em:

1) plantar um viveiro com sementes de limão-cravo ou laranja-da-terra, que são plantas rústicas com alto poder de absorção de nutrientes do solo;

2) esperar a planta crescer até o caule atingir a espessura de 1,0 a 1,5cm de diâmetro;

3) podar galhos de uma laranjeira que produza o tipo de fruta desejada, mantendo a parte cortada dentro d'água;

4) selecionar uma planta de limão-cravo ou laranja-da-terra e um dos galhos que você cortou. Ambos os caules devem ter a mesma espessura. Após a seleção, corte o caule da planta, 10 a 20cm do solo, com uma faca bem amolada;

5) cortar a base do galho em cunha;

6) fazer um corte longitudinal de, aproximadamente, um centímetro na parte superior do caule;

7) imediatamente, inserir o galho no caule da planta amarrando-os com uma fita plástica, preferencialmente aquela do tipo veda-rosca usada nas ligações hidráulicas;

8) retirar todas as folhas do galho, deixando apenas os brotos. Quanto mais simétricos forem os cortes das terminações maior a probabilidade do enxerto “pegar”. Nesse tipo de enxerto, a parte de baixo se chama cavalo e a de cima cavaleiro. Na **Figura 16.3** estão apresentados os elementos do processo de enxertia.

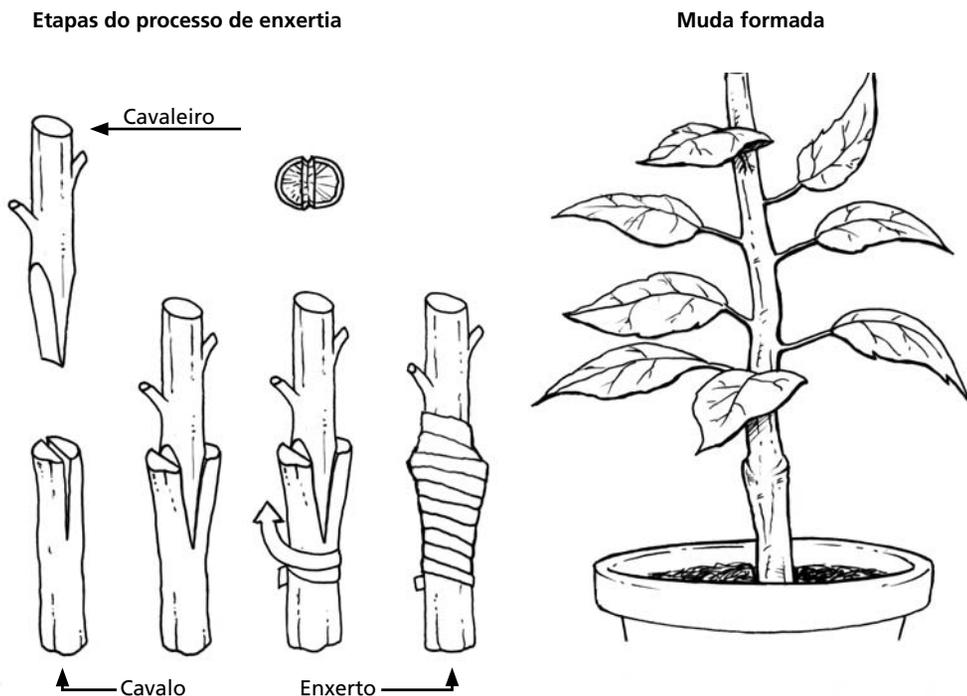


Figura 16.3: Uma das formas de fazer enxerto.

Na enxertia ocorre a fusão dos tecidos das duas plantas, pois, com o corte, há a exposição do material citoplasmático do tecido vegetal. O fenômeno acontece porque, durante o processo de cicatrização, tem início a síntese dos elementos da parede celulósica e da membrana vegetal, sendo que, para sobreviverem, o cavalo precisa da seiva elaborada e o cavaleiro da seiva bruta. Por isso, o segredo para o sucesso da pega do enxerto é: manipular plantas livres de viroses, usar plantas de um mesmo gênero e ter o cuidado de unir os elementos da casca e do lenho, conforme está apresentado no detalhe da **Figura 16.3**, para possibilitar o fluxo da seiva. Se você tiver disponibilidade poderá preparar, em seu quintal, uma árvore que, dependendo do galho, produzirá laranja, tangerina, lima e tantas outras frutas cítricas quantos forem os enxertos bem-sucedidos que você conseguir. Atenção! Existem outras formas de enxertia, com maior nível de eficiência do que esta aqui apresentada, você poderá descobri-las se pesquisar na *web* sobre o assunto. Lembre-se, entretanto, de que a enxertia é a maneira mais eficiente de se transmitir virose de um tecido vegetal para outro, por isso há a necessidade de se conhecer o “pedigree” das plantas usadas.

Os efeitos adversos da virose nessas plantas premunizadas são observados no lenho da parte da planta que corresponde ao enxerto. Ele apresenta reentrâncias denominadas caneluras, que vão se acentuando ao longo dos anos e isso reduz o tempo de vida da planta, como você pode observar nas Figuras 16.4 e 16.5. Após vinte anos a árvore morre pelo efeito da virose crônica. Por isso, os laranjais são constantemente renovados.



**Figura 16.4:** Exemplares de troncos de laranjeiras adultas mantidos no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC): as caneluras nos elementos do enxerto são resultados da premunização contra a tristeza dos citros. Na imagem à esquerda, observa-se a suscetibilidade do cavalo, e à direita do cavaleiro. Note a diferença de sentido adotada pelas fibras do lenho da planta.



**Figura 16.5:** Galhos de laranjeira cujo cavaleiro apresenta o efeito (caneluras) resultante da infecção com os vírus da premunização contra a tristeza dos citros.

Embora as plantas de onde foram cortados os galhos mostrados na **Figura 16.5** parecessem normais, o efeito da virose fará com que elas sucumbam, após vinte anos. Sem a premunização, poderiam viver mais de cem, porém, morreriam ao primeiro contágio com os vírus da tristeza verdadeira. Fazendo-se uma analogia às viroses nos animais, definir-se-ia como infecção pelos vírus vacinais e selvagens, respectivamente. Para o citricultor é mais seguro ter o pomar produzindo por duas décadas do que arriscar e perder todo o investimento de uma vez. Usa-se, pois, a premunização das plantas para evitar a tristeza do citricultor.

A transmissão das viroses de vegetais só é possível quando a planta é lesionada, como ocorre nas podas, quando o instrumento cortante é contaminado numa planta e utilizado em outra. Se esta última for suscetível, a virose pode se fazer aparente. Como citamos anteriormente, outras formas de transmissão envolvem a perfuração ou corte de parte da planta por insetos como pulgões, moscas, mosquitos, besouros ou outros seres vegetarianos que se alimentam de folhas, raízes ou caules. A maneira como os vírus de vegetais chegam ao ambiente citoplasmático é diferente da que ocorre com os vírus de células de origem animal. Estes últimos têm apenas o material genético internalizado nas células. Nas viroses de plantas, é necessário que a partícula inteira seja colocada no citoplasma. Você já pensou o motivo disso? Muito bem! Você se lembrou de que as plantas têm uma rígida parede de celulose e, portanto, suas células não fazem endocitose, por isso há a necessidade do corte para que ocorra a contaminação do tecido vegetal. Se a planta contaminada tiver repertório enzimático para produzir os vírus infecciosos, a infecção poderá se instalar nela, de forma localizada ou disseminada.

A contaminação do cavalo da planta enxertada ocorre através de fluidos do tecido do enxerto contaminado. Para você entender como isto acontece, é necessário lembrar que as plantas superiores têm uma estrutura supracelular onde cada planta representa um grande **SINCÍCIO**, em razão da existência dos **PLASMODESMOS**, que são canais de intercomunicação citoplasmática (unem os múltiplos núcleos do corpo da planta). Com isso, a unidade da planta é o próprio corpo celular.

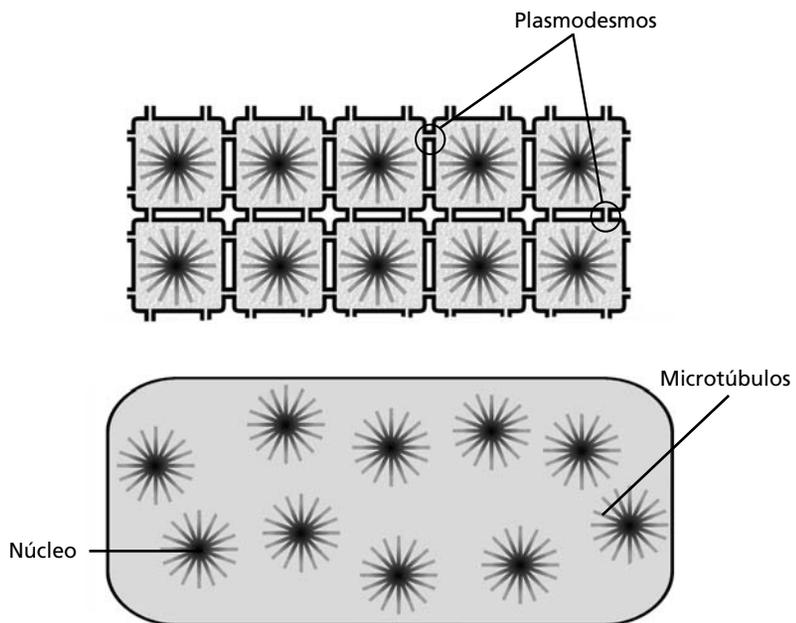
#### SINCÍCIO

Massa de protoplasma contendo muitos núcleos.

#### PLASMODESMOS

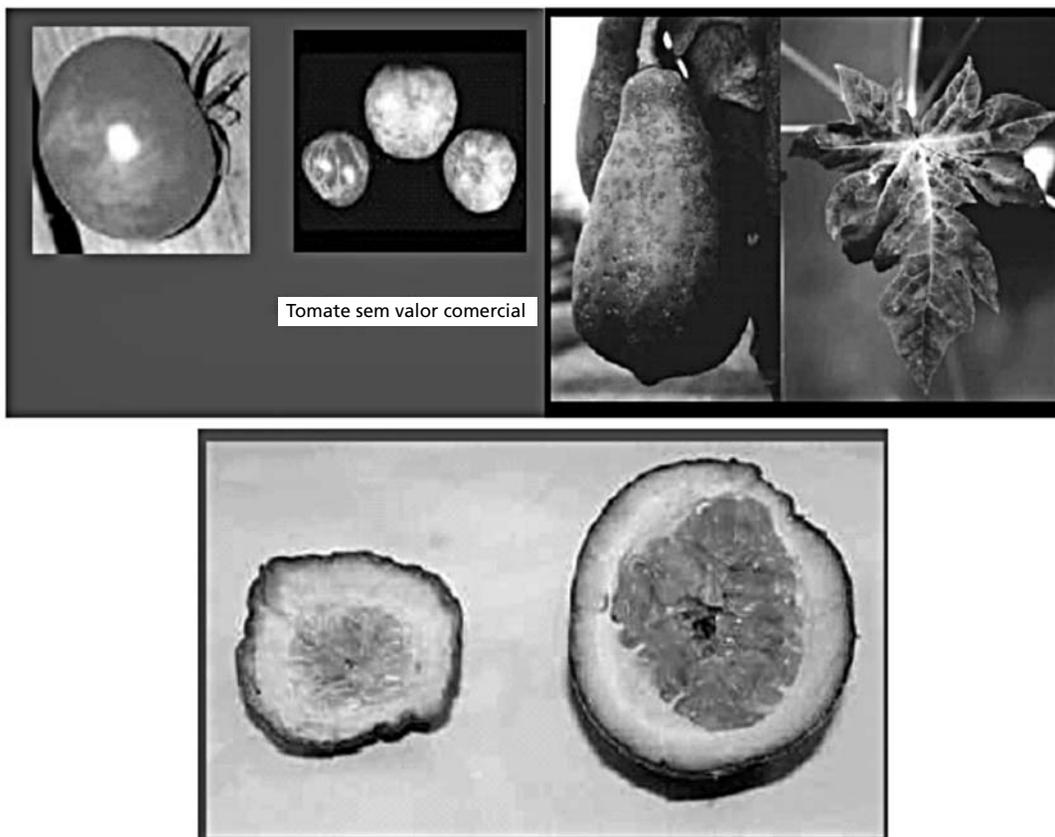
Tubulações da membrana plasmática que estabelecem o contato entre os compartimentos onde estão localizados os núcleos, o que constitui o sincício. Por isso, a transmissão das viroses nas plantas ocorre quando o corpo da planta é lesionado, resultando na exposição do ambiente protoplasmático. A infecção resultante pode ser localizada ou disseminada, dependendo da fisiologia do vegetal.

Nas plantas superiores não existem células individualizadas. Na verdade, os núcleos estão interconectados via plasmodesmos, formando uma massa supracelular interligada por canais da membrana plasmática, através dos quais os núcleos podem se comunicar uns com os outros. Como consequência, a individualidade da célula não existe, mas sim um citoplasma unido e integrado, chamado corpo sincicial, que constitui o organismo vegetal como um todo. Esse fenômeno está representado na **Figura 16.6**.



**Figura 16.6:** Acima: esquema representando a disposição dos vários compartimentos onde estão situados os núcleos do arranjo supracelular das plantas. Abaixo: representação esquemática do sincício, onde vários núcleos estão contidos no protoplasma delimitado pela membrana plasmática.

As viroses de vegetais causam prejuízos ao produtor, uma vez que as plantas com viroses produzem menos e têm seu tempo de vida bastante encurtado. Os frutos e folhas ficam menores, ressecados e com o aspecto desagradável ao consumidor (como você pode verificar nos exemplos mostrados pela **Figura 16.7**, o que faz com que o produto encalhe nas prateleiras, se conseguir chegar lá.



**Figura 16.7:** Vegetais apresentando viroses: acima, à esquerda, tomate com a virose, comparado a um fruto normal; acima à direita, o aspecto do mosaico da folha do mamoeiro e o fruto apresentando diminuição do tamanho, anéis de descoloração na casca e formato alterado; abaixo, vemos uma comparação entre um maracujá normal, à direita, e um apresentando virose, à esquerda. Fonte: [www.ufv.br/dfp/virologia/BIO251\\_files/Aula\\_teorica\\_BIO\\_251\\_2005.pdf](http://www.ufv.br/dfp/virologia/BIO251_files/Aula_teorica_BIO_251_2005.pdf)

Outra virose de grande importância econômica para a agricultura mundial, em particular, no âmbito da citricultura é a tristeza dos citros, que já dizimou milhões de plantas cítricas. O vetor é o pulgão preto, artrópode da espécie *Toxoptera citricida*. A vigilância em relação a essas viroses tem de ser muito rigorosa, pois ainda que a planta cítrica afetada não morra logo, há interferência no seu desenvolvimento e produtividade. Para um país exportador de suco de laranja, uma virose desse tipo afetará drasticamente a balança comercial.



No começo do século XX, com a expansão da agricultura brasileira, foram importadas várias espécies de plantas frutíferas, dentre as quais a nespereira e o pessegueiro. Embora estas aqui chegassem aparentemente sadias, traziam uma virose que se alastrou como praga entre os marmeleiros que aqui existiam de maneira nativa. Não sobrou sequer um! Assim, os pais severos não puderam mais castigar seus filhos desobedientes com as famosas varas de marmelo. Jovem brasileiro: se você tem o privilégio de não conhecer a vara de marmelo como corretivo, agradeça àquelas viroses!

Há também a virose da cana-de-açúcar denominada amarelinho-da-cana, por causa do aspecto apresentado pelas folhas. Melancia, couve-flor, brócolis, batata, batata doce, repolho e videira também podem desenvolver viroses, levando a um grande prejuízo.

Da mesma forma que foi visto em relação aos animais, os vírus de plantas também podem ser classificados de acordo com o material genômico DNA ou RNA. Além disso, podem ter o nucleocapsídeo envolto ou não por envelope lipídico. Entretanto, nas plantas não existem descrições de infecções por retrovírus, aqueles cujo modelo de replicação genômica corresponde à classe 6 de Baltimore, como você viu na Aula 15. Na **Tabela 16.1** estão listadas as características estruturais dos vírus de plantas, incluindo alguns grupos de vírus e espécies de plantas suscetíveis.

**Tabela 16.1:** Características de vírus de plantas e exemplos de vegetais que podem infectar

Ácido Nucléico	Envoltório lipídico	Distribuição genômica	Exemplo de vírus	Espécie de vegetal suscetível*
ds DNA**	Ausente		<i>Caulimovirus</i>	Couve-flor
ss DNA***	Ausente		<i>Curtovirus</i>	Beterraba
ds RNA	Ausente		<i>Varicosavirus</i>	Alface
ss RNA	Ausente	Monopartite	<i>Potyvirus</i>	Batata-inglesa
		Bipartite	<i>Comovirus</i>	Feijão-fradinho
		Tripartite	<i>Cucumovirus</i>	Pepino
		Quadripartite	<i>Tenuivirus</i>	Milho
	Presente		<i>Tospovirus</i>	Tomate

\* Da lista constam exemplos da principal **ESPÉCIE VEGETAL INDICADORA**, porém, um mesmo tipo de vírus pode ser encontrado infectando diferentes espécies de plantas, bem como uma mesma espécie de planta pode ser infectada por tipos distintos de vírus; \*\*ds = fita dupla; \*\*\* ss = fita simples.

### ESPÉCIE VEGETAL INDICADORA

Tipo de planta que, quando infectada com determinado tipo de vírus, mostra sinais da doença. Geralmente, o primeiro tipo de planta em que a virose foi descrita tende a ser considerado como o principal implicado na manutenção da virose na Natureza, embora a mesma virose possa ser propagada em outras espécies vegetais.

Nos laboratórios de viroses vegetais, as plantas mais utilizadas como indicadoras para diagnóstico de viroses são as da família solanácea, como o fumo (*Nicotiana tabacum*) e a jurubeba (*Solanum juripeba*) e da família das leguminosas, particularmente o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). Na **Figura 16.8** é demonstrada a seqüência de procedimentos utilizados para a inoculação de viroses em plantas indicadoras. Esses procedimentos consistem em ferir as folhas da planta, para permitir a introdução das partículas virais no citoplasma do sincício do tecido vegetal.



**Figura 16.8:** Forma de propagação de virose, utilizando planta indicadora: planta sadia adoece e suas folhas são trituradas, o suco das folhas é filtrado utilizando filtro esterilizante. Uma planta indicadora, após ter suas folhas lesadas mecanicamente, é borrifada com o suco filtrado, e desenvolve a virose.

#### GENES ESTRUTURAIS E NÃO-ESTRUTURAIS

Os genes estruturais são aqueles que codificam as proteínas que farão parte da partícula viral. Os não estruturais são aqueles que codificam proteínas com atividade enzimática, que auxiliam ou complementam o metabolismo celular para a construção de novas partículas virais sem, contudo, fazerem parte delas.

Uma característica da Virologia vegetal que a diferencia da Virologia animal é o fato de o genoma viral poder ser encontrado contido em uma única partícula ou dividido entre duas, três ou quatro partículas de dimensões diferentes, como você acabou de ver na **Tabela 16.1**. Para que ocorra a infecção com esses tipos de vírus bi, tri ou tetrapartite é necessário que a célula se contagie, simultaneamente, com os diferentes tipos de partículas. Isto porque a distribuição dos **GENES ESTRUTURAIS E NÃO-ESTRUTURAIS** é feita em partículas diferentes.

Para saber mais detalhes sobre as viroses que acometem os cultivares brasileiros, acesse o endereço do Instituto Agrônomo de Campinas ou da Embrapa e procure o setor de Fitossanidade, onde encontrará mais informações sobre as viroses, os vetores e as pesquisas efetuadas no Brasil sobre o assunto.

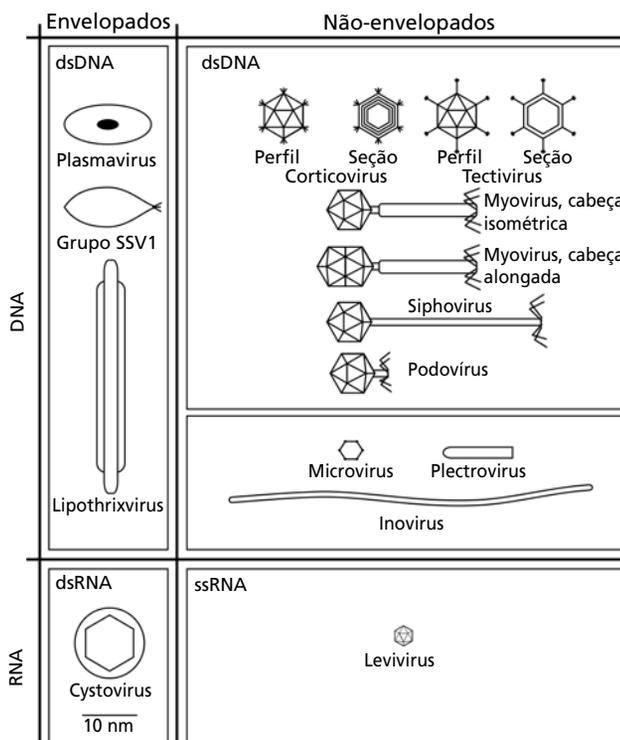
Se você quiser fazer um intervalo, a hora é esta, pois a seguir iniciaremos a segunda parte da aula, onde serão abordadas as viroses de bactérias.

#### VIROSES DE BACTÉRIAS

Os vírus de bactérias, embora tenham sido os últimos a serem descobertos, constituíram ferramentas muito úteis nas investigações sobre a maneira como as células são infectadas e como fazem a produção de novas partículas. Em 1915, enquanto trabalhava com culturas de *Staphylococcus aureus* (bactérias associadas aos furúnculos), Frederick Twort (1877–1950) notou que colônias destas bactérias apresentavam focos de áreas lisadas. Se o material dessas áreas de lise, mesmo depois de filtrado, fosse repassado para novas culturas bacterianas, da mesma

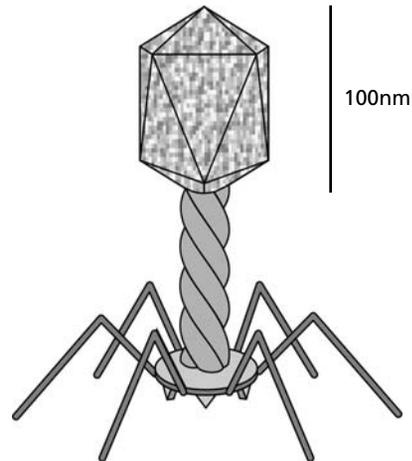
espécie, estas também lisariam. Devido a isso, Twort sugeriu que a causa da lise deveria ser uma virose, mas não prosseguiu com essa linha de pesquisa. Dois anos mais tarde, Felix d’Herrelle (1873-1949) descreveu a existência dos vírus de bactérias atribuindo-lhes o nome de bacteriófago que, em latim, significa "comedor de bactérias". O termo bacteriófago logo deu lugar a uma nomenclatura menos complicada, passando esses vírus a serem conhecidos por fagos. Quer se use a palavra completa ou a forma reduzida, é claro que você percebeu que o termo não foi apropriado – mas você deve ter em mente que no início do século XX não havia o conhecimento do qual você está usufruindo hoje.

Há uma grande diversidade morfológica entre os vários vírus bacterianos: eles podem ser filamentosos, icosaédricos, não-envelopados, envelopados (sendo alguns com duplo envelope) ou de morfologia complexa. Esquemas dessas morfologias você pode observar na Figura 16.9.



**Figura 16.9:** Representação dos tipos morfológicos bacterianos distribuídos de acordo com os tipos de ácido nucléico e a presença de envelope. Tomando como referência a barra apresentada na margem esquerda inferior, você pode calcular a dimensão de cada um dos tipos virais.

Entre os fagos de estrutura complexa, encontram-se os fagos T, que são classificados numericamente de T1 a T7. A estrutura dos fagos T de número par é aquela adotada na maioria das representações, e você pode vê-la, de forma esquemática, na **Figura 16.10**.

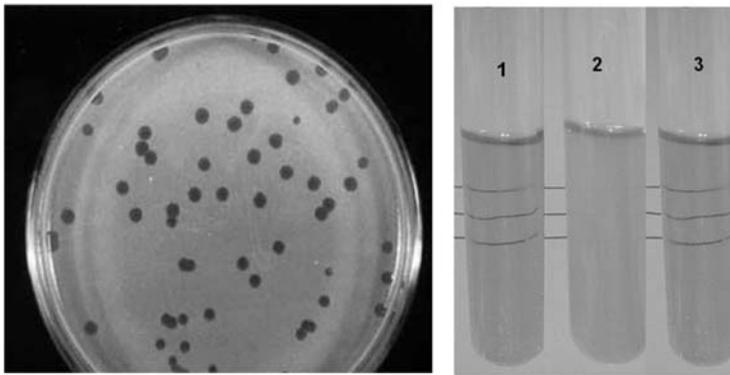


**Figura 16.10:** Representação artística do fago T4. Como você pode perceber a estrutura complexa é formada por uma cabeça de 100nm (onde está contido o DNA), uma cauda retrátil e uma base, na qual estão inseridas fibras que têm ação enzimática.

O *design* dos fagos T pares inspirou os construtores do módulo lunar usado na Apollo 15. Navegando nesse módulo, em 1969, o astronauta Neil Armstrong conseguiu "alunissar" e ser o primeiro homem a pôr os pés na lua, façanha esta que você pode repetir contratando a agência espacial russa, por US\$ 100 milhões. Se não dispuser desse valor, você pode entrar na fila de espera para passar uma semana na Estação Espacial Internacional (ISS), pela bagatela de US\$ 20 milhões. Informe-se a respeito na embaixada russa ou pesquise na *web*, visitando a seguinte página: [www.folha.uol.com.br/folha/ciencia/ult306u14097.shtml](http://www.folha.uol.com.br/folha/ciencia/ult306u14097.shtml).

Na **Figura 16.11**, você pode observar o efeito das infecções virais nas culturas bacterianas em meio líquido ou em meio sólido. No meio líquido, em tubos, a cultura bacteriana que antes da inoculação viral se apresentava turva, evolui para lise. Quando a lise ocorre, o tubo adquire o aspecto límpido tal qual o tubo controle sem crescimento bacteriano. Embora a quantidade de vírus tenha aumentado em função das células que lisaram, o que antes era turvo fica translúcido, pois o tamanho das partículas virais é menor do que o menor comprimento de onda da luz visível, portanto não absorvem a luz e, por isso, não podem ser

visualizadas. Isso foi apresentado a você na figura do espectro da luz, na nossa Aula 1. Nas culturas em meio sólido, depois que as bactérias são semeadas pela superfície, para formar um crescimento confluyente, inocula-se a preparação viral. A quantidade de vírus existente nesta preparação vai ser revelada pelo número de focos de lise que é observado na superfície da placa após o crescimento da população microbiana. Esses focos de lise também são chamados “plaques”. A quantidade de plaques observada corresponde ao número de partículas virais infecciosas, contido no volume inoculado.



**Figura 16.11:** À esquerda: placa de Petri de 10cm de diâmetro, com crescimento bacteriano apresentando focos de lise decorrentes da infecção fágica. Observe que o formato dos focos de lise, ou plaques, apresenta-se circular, resultante da difusão radial das novas partículas virais formadas. À direita: 1. tubo controle, contendo apenas meio de cultura; 2. meio de cultura inoculado com bactérias; 3. cultura bacteriana que após inoculação com os vírus evoluiu para lise.

## QUANTIFICAÇÃO DE VÍRUS

Até 1939, as pesquisas sobre vírus bacterianos ficaram limitadas à descrição e caracterização dos novos tipos encontrados em espécies microbianas distintas. Naquele ano, o grupo de pesquisa liderado pelo cientista Max Delbrück (1906-1981) elaborou os experimentos que responderam às seguintes perguntas:

1. Quanto tempo uma cultura bacteriana infectada com vírus demora para começar a liberar novos vírus?

2. Quantos vírus são gerados a partir de uma única célula bacteriana?

Eles acompanharam toda a seqüência de produção de vírus, efetuada por uma quantidade conhecida de células de *E. coli*, e

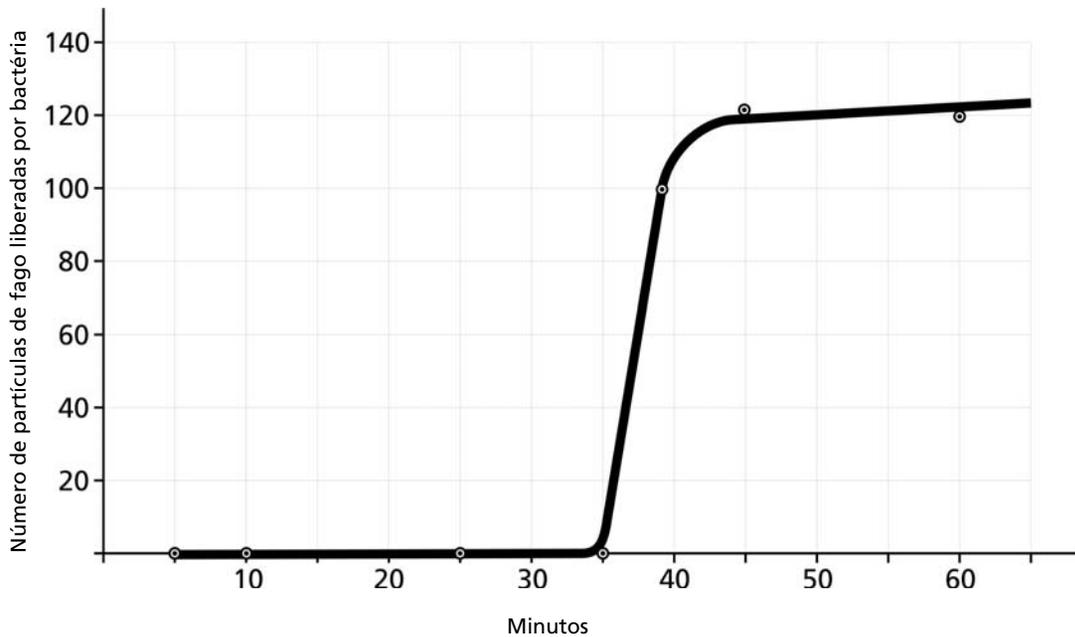
**MULTIPLICIDADE DE INFEÇÃO (USUALMENTE DESIGNADA PELA SIGLA MOI = MULTIPLICITY OF INFECTION)**

É o índice que relaciona o número de células com o número de vírus utilizados na infecção. Multiplicidade igual a 1 significa que a quantidade de vírus é igual à quantidade de células bacterianas, ou seja, uma proporção de 1:1. Para encontrar esse índice, com valores diferentes, divide-se o número de vírus pelo número de células inoculadas.

representaram os resultados do experimento sob a forma de um gráfico onde estavam relacionados a quantidade de vírus e o tempo de duração da experiência. Nessa infecção experimental foi usada uma **MULTIPLICIDADE DE INFEÇÃO** igual a 1.

A *E. coli* é um tipo de bactéria regularmente encontrada nas fezes dos animais vertebrados.

A linha de resultados apresentados na **Figura 16.12** mostra que, em função do tempo, a produção de partículas virais ocorre numa única etapa, ou seja, forma um único patamar. Esse modelo de gráfico é típico da formação de produtos inanimados, no caso, os arranjos moleculares formados a partir dos produtos sintetizados e acumulados no interior das células bacterianas que, ao lisarem, liberam o que produziram.



**Figura 16.12:** Demonstração da produção de vírus em etapa única, utilizando bactérias com o tempo de geração igual a trinta minutos.

**Como diluir vírus de bactérias para quantificá-los**

O arranjo molecular das partículas virais é facilmente desfeito, se não forem tomados determinados cuidados quando se vai manipular as preparações. Para a quantificação há necessidade de diluir a suspensão viral. Os procedimentos a serem seguidos consistem em: tendo-se uma suspensão de vírus de bactérias, diluí-la em tampão de pH 7,6, contendo íons  $\text{Ca}^{++}$  e  $\text{Mg}^{++}$  em concentrações micromolares, junto com um teor protéico de 0,2%. O pH alcalino assegura a estabilidade conformacional das proteínas da partícula viral. Os íons alcalino-terrosos se prestam para ampliar o processo de interação vírus-célula, uma vez que as fibras dos fagos (que são enzimas) precisam desses íons como co-fatores para exercer sua ação na parede bacteriana. O teor protéico serve tanto para proteger as partículas virais da ação de possíveis proteases como para diminuir a tensão superficial da solução onde as partículas virais estão suspensas. A tensão superficial diminuída funciona como um acolchoado para amortecer o choque das partículas virais com a superfície do líquido onde elas estão sendo diluídas. Se, no momento da diluição, o choque ocorrer sem esse amortecimento, as partículas serão espatifadas devido ao impacto, da mesma forma como se alguém caísse, dentro d'água, de uma altura de 60m.

Em virtude de suas dimensões, as partículas virais se mantêm em movimento browniano na suspensão aquosa. Quantificá-las consiste em determinar quantas partículas existem em um dado volume. Para isto, a suspensão é diluída de maneira seqüenciada e volumes estabelecidos de cada diluição são inoculados sobre a população de bactérias previamente semeada na superfície da camada de meio de cultura. Neste caso, a quantificação será por plaques (Unidades Formadoras de Plaques ou sua sigla em inglês PFU).

**ATIVIDADE**

2. Na virologia experimental um dos procedimentos mais executados é a quantificação de vírus, pois é a partir destes resultados que têm início a maioria dos trabalhos realizados em laboratório. Para que você se sinta fazendo parte de uma equipe de virologistas, imagine-se cumprindo um estágio em Virologia, durante o qual você precisa determinar o título infeccioso, por mL, de uma suspensão de fagos. Dispondo do protocolo, dos reagentes, dos materiais e das condições de assepsia, você inicia o trabalho diluindo a suspensão viral, na base 10, nas proporções de 1:10 ( $10^{-1}$ ) até  $10^{-6}$ . Usando uma cultura bacteriana indicadora, previamente semeada em meio de cultura líquido para alcançar a fase logarítmica de crescimento, você a mistura com igual volume de uma solução tampão de pH 7,6, adicionada de Ca, Mg e gelatina. A cultura bacteriana, assim

preparada, é semeada sobre a superfície de um meio de cultura sólido, em placa de Petri, contendo apenas os elementos nutritivos essenciais ao clone bacteriano indicador. Você divide a área semeada da placa em seis partes, marcando-as de -1 a -6. Em seguida adiciona, sobre o filme de bactérias, 10 microlitros de cada uma das diluições de vírus, começando pela mais diluída ( $10^{-6}$ ) até a mais concentrada. Com esse procedimento você vai precisar gastar apenas uma ponteira no seu pipetador. Após 24h de incubação a  $37^{\circ}\text{C}$ , ao proceder a leitura dos resultados, você constata que no local marcado -1, há um grande halo de lise com a borda regular. No local -2 o halo tem o mesmo diâmetro, mas a borda é irregular. Em -3 já são percebidos plaques que se misturam uns aos outros, não permitindo contagem. Em -4 contam-se 8 plaques. Nos locais -5 e -6, nenhum plaque é observado. Diante dessa situação, faça o cálculo de quantas PFU, por mL, estão presentes na sua preparação de vírus original.

---



---



---



---



---



---



---



---



---



---

**FAGOTIPAGEM  
(FAGO + TIPAGEM)**

Processo usado para caracterizar clones de uma mesma espécie microbiana, quanto à capacidade de evoluírem para lise quando infectados com determinado tipo de fago. Parte-se de uma quantidade de fago previamente definida (30 a 70 PFU / inóculo efetuado sobre a cultura bacteriana, semeada na superfície de um meio sólido, de composição nutricional pobre). As amostras que forem indicadoras para o tipo de bacteriófago utilizado, são classificadas como um subclone, sensível à infecção por este fago.

**RESPOSTA COMENTADA**

*Moleza, hein? Você inoculou um volume de  $10\mu\text{L}$  de cada uma das diluições da suspensão viral. No local onde foi inoculada a preparação correspondente à diluição  $10^{-4}$  (1 em 10.000), você contou oito plaques. Isto significa que em cada 10 microlitros da suspensão original, não diluída, existem  $8 \times 10^4$  PFU. Mas esta quantidade encontrada está em  $10\mu\text{L}$ . Como foi perguntada a quantidade de vírus por mL e você sabe que 1 mL corresponde a  $1.000\mu\text{L}$ , foi só fazer uma regra de três (se em  $10\mu\text{L}$  tem  $8 \times 10^4$  então, em 1.000 microlitros haverá x PFU). Fazendo a operação:  $X = (8 \times 10^4 \times 1.000) / 10$ . Logo x será igual a:  $8 \times 10^4 \times 10^2$ . Dessa maneira, você encontrou que na sua suspensão original existem  $8 \times 10^6$  PFU/mL.*

*Esses cálculos constituem a base para a técnica de **FAGOTIPAGEM**, utilizada pelos microbiologistas na classificação de bactérias associadas às doenças humanas como, por exemplo, Vibrio cholera, Salmonella enterica e Staphylococcus aureus e, na indústria de laticínios, na identificação dos Lactobacillus utilizados na fabricação de queijos.*

*Agora que você sabe que tem 80.000 PFU/10µL na sua preparação, é preciso diluí-la para a concentração de 50 PFU/10µL, a fim de ser utilizada no teste de fagotipagem. Como fazer isso? É muito simples: basta diluí-la na proporção de 1:1600. Por que 1:1600? Porque, se temos 80.000 PFU/10µL, então, para ter 50 PFU/10 µL basta dividir 80.000 por 50 ou, simplificando, 8.000 por 5, que é igual a 1.600. Com essa preparação assim diluída, você pode usá-la frente a diferentes clones microbianos a fim de identificar se são indicadores ou não do tipo de fago utilizado. A quantidade de 8 milhões de partículas virais por mL da suspensão parece muito, mas os números em Virologia são dessa monta para maior e servem de alerta para obediência às condutas de segurança no trabalho. Por isso, podemos supor que você, ao manipular as preparações virais, fará isso de maneira a não formar aerossóis, para evitar assim a contaminação do seu local de trabalho.*

O aparecimento de PFU no processo de quantificação é influenciado pela composição do meio de cultura. Esse fato é utilizado rotineiramente pelos virologistas como estratégia para domar as células, fazendo com que elas ampliem o máximo possível a expressão do seu repertório enzimático, que é uma característica genética de cada tipo de célula. Quanto mais amplo for esse repertório, maior será a chance das células terem as enzimas que as capacitarão a produzir vírus. Você deve se lembrar da competência celular mencionada na Aula 15! O truque consiste em cultivá-las em um meio o mais pobre possível, contendo como nutrientes somente o mínimo essencial. Uma maneira prática de representar esse fenômeno pode ser observada na **Tabela 16.2**.

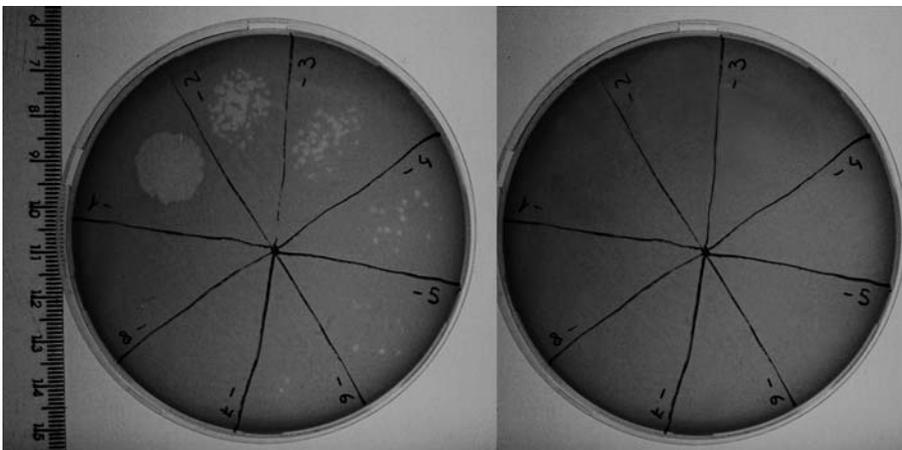
**Tabela 16.2:** Desenvolvimento de culturas celulares de acordo com o meio usado para cultivo

Tipo de meio nutriente	Cultura de células tipo A	Cultura de células tipo B
Complexo (rico)	+	+
Restrito (pobre)	+	-

Analisando os resultados expressos na **Tabela 16.2**, você pode perceber que a cultura A tem um repertório enzimático mais amplo que a B, o que permite que ela se desenvolva tanto em meio complexo quanto em meio restrito. Ou seja, a maioria das células

da cultura A, por dispor de um repertório enzimático mais amplo, tem uma maior chance de produzir vírus. Afinal, quem dispõe de maior número de ferramentas tem maior probabilidade de ter todas aquelas que são necessárias à elaboração de um determinado trabalho. Este é um conceito fundamental para se entender a competência celular para desenvolver viroses.

Quando, na superfície de um meio de cultura sólido, tem início o fenômeno de lise numa célula da população bacteriana infectada, os vírus liberados pela célula lisada vão infectar as células vizinhas que, por sua vez, infectarão outras e, assim, sucessivamente até o momento que o diâmetro do plaque estaciona. Obviamente, quanto mais ciclos de produção viral houver, maior será o diâmetro do plaque. As células que definem a borda final do diâmetro do plaque conseguem esta façanha porque à medida que as células antecessoras vão lisando, o conteúdo protoplasmático destas (incluindo vitaminas, glicídios e aminoácidos) se difunde de maneira radial, a partir do centro. A difusão das moléculas menores pelo meio de cultura aumenta a qualidade nutritiva deste. As células que forem beneficiadas com esse aporte nutricional tendem a reduzir a sua expressão enzimática, diminuindo sua versatilidade metabólica, transformando-se, assim, em células não competentes para produção de vírus e o plaque fica com o formato circular, conforme você viu na **Figura 16.11**. Na **Figura 16.13**, você pode comparar a produção de vírus pelo mesmo tipo bacteriano, cultivado em dois meios de teor nutritivo diferente.



**Figura 16.13:** Placas com crescimento de bactérias, inoculadas com suspensões virais diluídas. À esquerda, o meio de crescimento é mínimo essencial (meio pobre); à direita, o meio é suplementado (meio rico).



**ATIVIDADE**

3. Considerando que as viroses na Natureza são fenômenos característicos dos seres vivos, explique como a apresentação de uma dada virose está relacionada com o percentual de células competentes que compõem a população celular envolvida com a infecção viral, índice este conhecido como eficiência de infecção (EI).

---



---



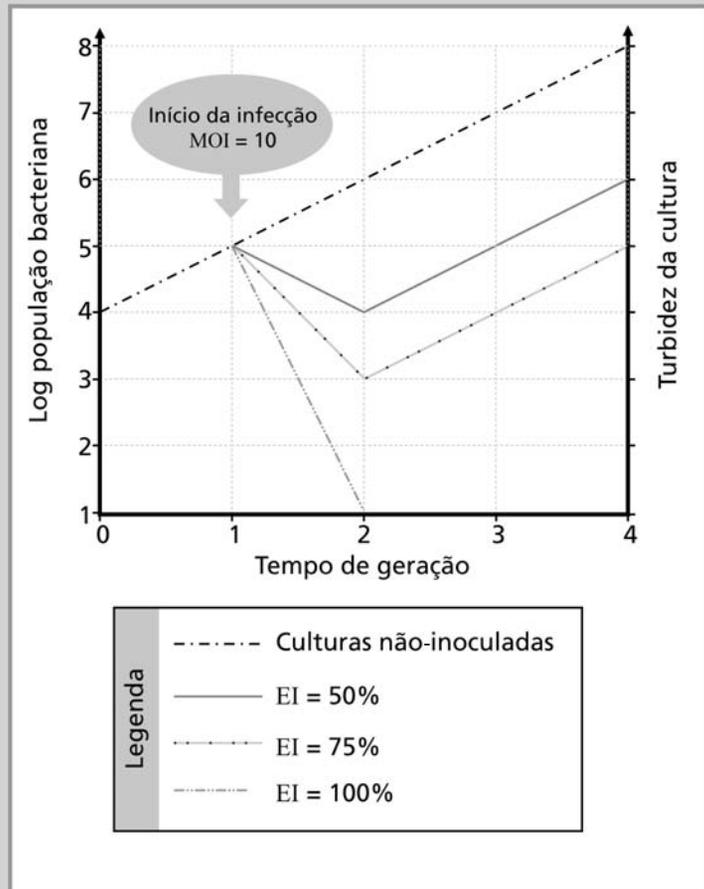
---



---

**RESPOSTA COMENTADA**

Quando a EI é alta, o comprometimento da população celular do organismo é acentuado, gerando a forma de infecção aparente ou sintomática. Quando se trata, de populações bacterianas, esse efeito pode ser representado sob a forma de gráfico, relacionando a proporção de células comprometidas em função do tempo. Como você pode ver no exemplo a seguir:



## MODELO DE INTERNALIZAÇÃO DO GENOMA VIRAL

O avanço da Química Orgânica e da Bioquímica permitiu definir os processos de purificação dos vírus de bactérias e caracterizá-los como sendo constituídos de proteínas e ácido nucléico. Até 1944, as proteínas eram consideradas os principais elementos dos seres vivos e os ácidos nucléicos apenas acessórios. Essa concepção foi invertida após os clássicos experimentos de transformação genética elaborados pela equipe do bacteriologista Oswald Avery (1877-1955), mostrando que o material transformante era o DNA.

Corroborando os experimentos de Avery, os pesquisadores Alfred D. Hershey (1908-1977) e Martha Chase (1930-2003), em 1952, provaram que nas infecções virais em bactérias, apenas o ácido nucléico é internalizado.

Você pode estar se perguntando: se uma célula, para fazer vírus, precisa da informação do DNA viral e este está contido numa concha protéica (o capsídeo) e o protoplasma das bactérias está isolado do meio ambiente por, pelo menos, dois elementos envoltórios (a membrana plasmática e a parede), como o ácido nucléico viral consegue atravessar essas três barreiras?

A explicação para o fenômeno foi apresentada por meio de singelo experimento desenvolvido por Hershey & Chase. Inicialmente, eles prepararam meios de cultura contendo substâncias radiativas, um com  $^{32}\text{S}$  e o outro com  $^{35}\text{P}$ . Nesses dois meios de cultura, foram inoculadas as bactérias. Crescendo nesses meios, as células passaram a sintetizar seus aminoácidos e suas bases nitrogenadas, respectivamente, marcados com  $^{32}\text{S}$  e com  $^{35}\text{P}$ . Tão logo o crescimento bacteriano tornou-se visível, as duas culturas foram inoculadas com vírus. Durante a produção dos componentes virais, as células utilizaram os elementos por elas sintetizados e, como resultado da infecção, lisaram. Os vírus produzidos por essas células bacterianas eram constituídos, respectivamente, de proteínas marcadas com  $^{32}\text{S}$  (lembre-se de que a metionina e a cisteína são tio-aminoácidos) e ácidos nucléicos marcados com  $^{35}\text{P}$ .

Com essas duas preparações virais, elaboraram o experimento esquematizado na **Figura 16.14**. Sucintamente, o experimento se constituiu em:

a) cultivo de bactérias em dois tubos contendo meio de cultura normal;

b) em um deles os cientistas inocularam a preparação de vírus marcados com  $^{32}\text{S}$  e no outro os vírus marcados com  $^{35}\text{P}$ ;

c) após o período de cinco minutos, a mistura vírus-bactérias foi agitada fortemente de maneira a dissociar toda e qualquer partícula viral que estivesse adsorvida às bactérias;

d) as preparações foram centrifugadas, para sedimentar as células bacterianas;

e) foram recolhidos o sobrenadante e o sedimento de cada um dos dois tubos;

f) o grau de radiatividade existente nas diferentes amostras foi aferido;

g) os resultados das aferições encontram-se na **Tabela 16.3**.

**Tabela 16.3:** Demonstração dos resultados do teor de radiatividade associada às diferentes preparações

Amostra analisada	% de radiatividade detectado
Sobrenadante da cultura $^{32}\text{S}$	85
Sedimento da cultura $^{32}\text{S}$	15
Sobrenadante da cultura $^{35}\text{P}$	15
Sedimento da cultura $^{35}\text{P}$	85

Para interpretar os resultados registrados nessa tabela, considerando que as partículas virais eram formadas de ácido nucléico e proteínas, aquela dupla de cientistas havia formulado duas hipóteses:

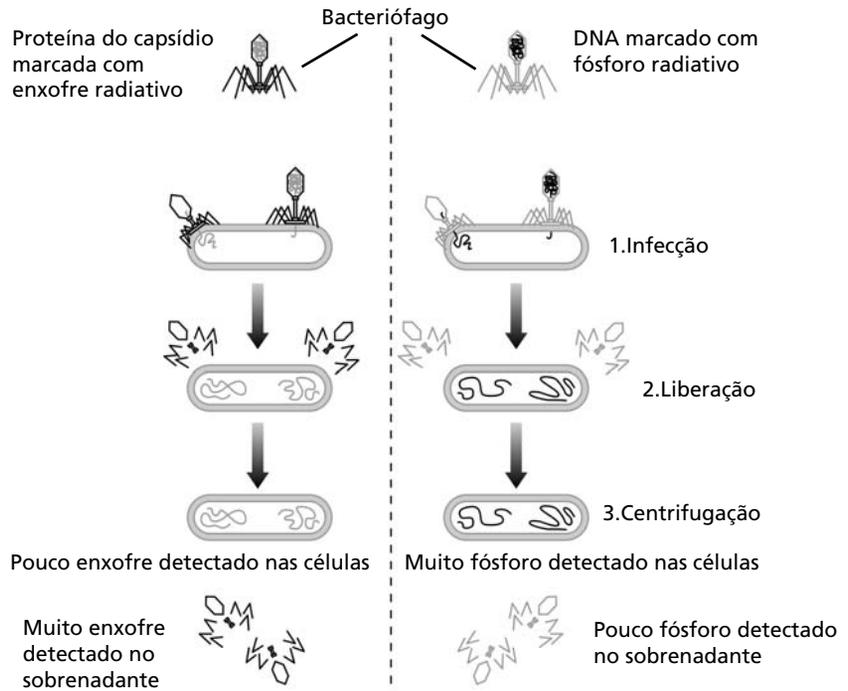
– a primeira considerava que toda a partícula viral passava para dentro da célula. Se isto fosse verdade, o percentual de  $^{35}\text{P}$  e de  $^{32}\text{S}$ , encontrado nas células sedimentadas, deveria ser bem próximo um do outro.

– a segunda, que apenas um dos componentes virais entrava nas células. Se assim fosse, a concentração deste seria alta no sedimento e baixa no sobrenadante, restando a pergunta, qual deles: as proteínas ou o ácido nucléico?

Em função dos resultados, puderam concluir que se a maior concentração do conteúdo fosforilado é encontrado na célula bacteriana, enquanto a maior parte do conteúdo sulfatado está no sobrenadante, então o que passa para dentro da bactéria é apenas o material genético e não a capa protéica.

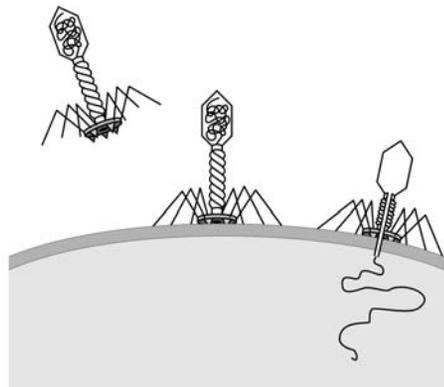
Essa descoberta proporcionou a Alfred Hershey ser agraciado, junto com Max Delbrück e Salvador Luria (1912-1991), com o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina de 1969.

Na **Figura 16.14** encontra-se esquematizada, de maneira artística, a seqüência dos experimentos executados por Hershey & Chase, que demonstraram a maneira como ocorre a internalização do genoma viral na célula bacteriana.



**Figura 16.14:** Experimento de Hershey & Chase.

Com esse experimento, foi possível estabelecer que o ácido nucléico viral é injetado na célula, conforme esquematizado na **Figura 16.15**.



**Figura 16.15:** Injeção do ácido nucléico.

As conclusões formuladas por Hershey & Chase permitiram o estabelecimento das bases moleculares que regem os processos de transformação celular.

Fazer chegar DNA no protoplasma de uma célula é o princípio básico da **ENGENHARIA GENÉTICA**. São várias as maneiras de fazer recombinação genética em células bacterianas: transformação, transdução, conjugação e eletroporação. As três primeiras podem ser observadas na Natureza e a última, desenvolvida pelos biólogos moleculares, consiste em empregar corrente elétrica para induzir a formação de poros nas membranas celulares. Através desses poros, o DNA do exterior pode chegar ao interior da célula. As células microbianas usadas neste processo devem estar sob a forma de protoplasto, ou seja desprovidas de parede celular.

### ENGENHARIA GENÉTICA

Ramo da Biologia Molecular que trata dos processos de transformação celular pela introdução de DNA exógeno.

Produção de protoplastos bacterianos: cultivar células bacterianas desprovidas de parede pode ser feito quando ao meio de cultura são adicionadas enzimas que hidrolisam a mureína ou antibióticos do tipo beta lactâmicos (vistos por você na Aula 9). Na composição do meio deve ser incluído alto teor de açúcar para assegurar a estabilidade do protoplasto sem explodir. Lembre-se de que a pressão osmótica da célula bacteriana é maior que a da célula de origem animal, conforme você viu na Aula 3.



Da mesma forma que você viu para as células animais e vegetais, a expressão de uma virose, em culturas bacterianas, está intimamente relacionada com o repertório enzimático destas células, que é expresso de acordo com o meio no qual as bactérias ou outro tipo de células se desenvolvem. Quanto menos rico em nutrientes for o meio, maior terá de ser a versatilidade metabólica das células e, conseqüentemente, maior é a probabilidade dessas células desenvolverem virose. É fácil entender o motivo: em meio pobre a célula tem de "tirar suco de pedra", por isso, precisa ter uma expressão enzimática mais ampla para poder sobreviver e, as que têm um repertório mais amplo, também têm maior chance de possuir as enzimas necessárias para síntese dos componentes necessários à construção de novas partículas virais.

## EFICIÊNCIA DE INFECÇÃO E EXPRESSÃO DAS VIROSES NA NATUREZA

Você já viu que, como nas viroses em animais, a expressão das viroses nas populações bacterianas está relacionada com o número de células competentes que compõem a referida população. Assim, quando numa determinada cultura o percentual de células capazes de produzir vírus for muito alto, após a infecção fágica, estas evoluem para lise.

A cultura lisada é facilmente identificada pelo seu aspecto transparente. Entretanto, se a cultura tiver 50% ou menos de células competentes, o efeito da virose não será notado como lise, pois as células incompetentes continuarão a se multiplicar, mantendo o aspecto turvo do meio de cultura. Quanto menor for a proporção de células competentes na cultura, menos evidente fica a virose, ou seja, toma um caráter inaparente. A virose nas bactérias, da mesma maneira que nas viroses de animais ou de plantas, tende a se apresentar de forma inaparente.

### **INCORPORAÇÃO DO GENOMA VIRAL NO CROMOSSOMO BACTERIANO**

Dentro de uma população de células bacterianas, quando infectadas por vírus, algumas delas têm a capacidade de expressar enzimas do tipo integrase que, utilizando o genoma viral como substrato, promovem a integração da molécula de DNA dos vírus à molécula cromossomial bacteriana. Quando isto acontece, as células bacterianas passam a se multiplicar mantendo o genoma alterado. A seqüência de genes virais é mantida reprimida. Por isso, esse modelo de interação vírus – célula só foi compreendido a partir dos experimentos de André Lwoff (1902-1994), na França, mostrando que uma cultura bacteriana contendo o genoma fágico pode ser repicada normalmente sem perda do genoma viral. Entretanto, nesse tipo de população bacteriana, foi demonstrado que existe também uma permanente produção de vírus, ou seja, algumas células dessa população perdem o controle da repressão dos genes virais e evoluem para lise em virtude da produção de novas partículas virais.

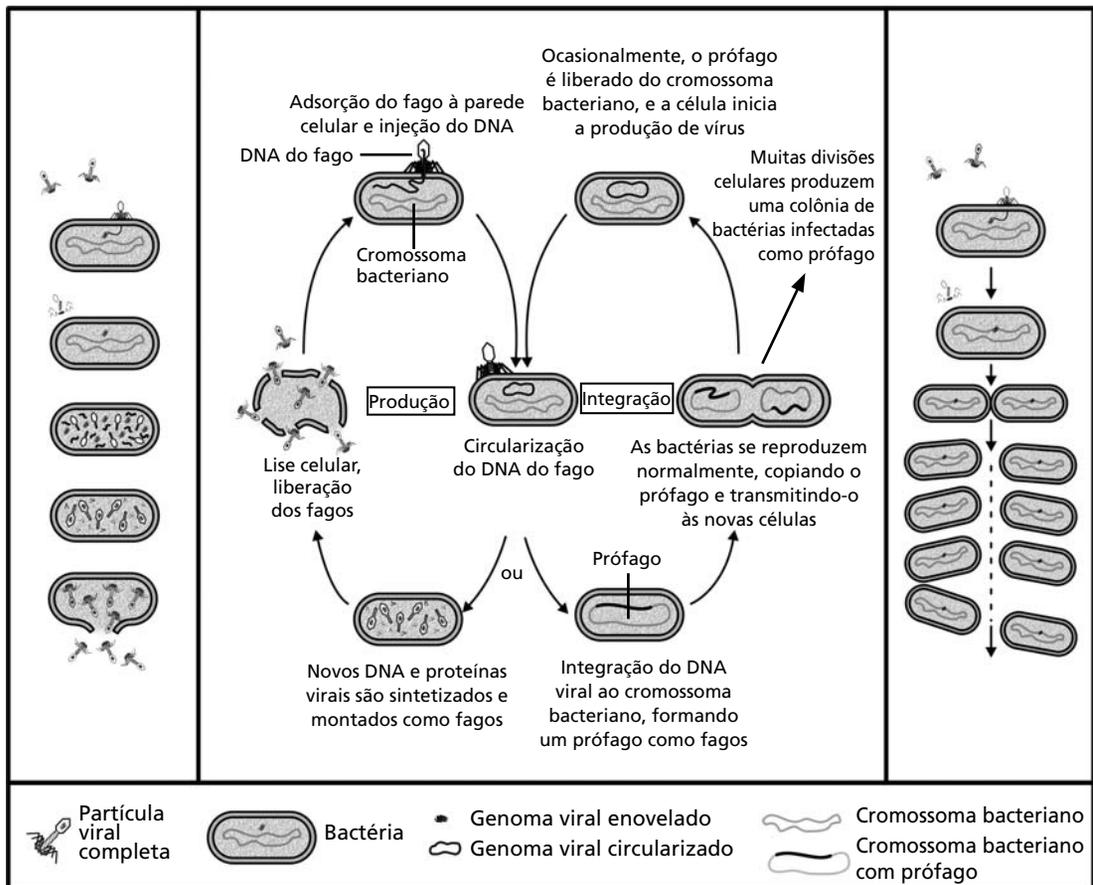
A seqüência genômica do fago incorporada ao genoma bacteriano recebe o nome de profago. As células das culturas bacterianas com essa característica multiplicam-se normalmente. Entretanto, uma em cada  $10^5$ , naturalmente, perde o controle da integração do profago e o libera. Esse genoma fágico livre no protoplasma passa a ser utilizado pela célula da mesma maneira que aquele introduzido nas fases iniciais da interação vírus-bactéria. As células onde o genoma viral fica desreprimido passam a sintetizar os componentes virais, e evoluem para lise liberando as partículas virais neoformadas no meio de cultura. As células portadoras do profago são resistentes à reinfeção.

Para você saber se as células de uma cultura têm profago, basta centrifugá-las, recolher o sobrenadante, passá-lo em filtro esterilizante

e inocular o fluido filtrado em uma nova cultura bacteriana constituída em 100% de células competentes para a produção dos vírus. Quando estas forem infectadas, a virose evoluirá para lise. Assim, podemos dizer que o sobrenadante da primeira cultura bacteriana (profago positiva) é capaz de gerar lise na população da segunda. As populações que evoluem para lise são chamadas indicadoras e aquelas que geram a lise nestas, são denominadas lisogênicas para as indicadoras.

Dessa maneira, só pode ser caracterizada uma cultura lisogênica se existir a indicadora para ela e vice-versa.

Na **Figura 16.16** você pode observar uma representação artística envolvendo o fenômeno de lise e de lisogenia.



**Figura 16.16:** Fenômenos de lise e de lisogenia nas culturas bacterianas.

A descoberta do fenômeno da lisogenia propiciou a André Lwoff receber o Prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia de 1965. Esse prêmio foi dividido com outros dois pesquisadores do Instituto Pasteur de Paris, Jacques Monod (1910-1976) e François Jacob (1920- ), que descobriram o **SISTEMA OPERON** de controle genético em bactérias.

### SISTEMA OPERON

É constituído por uma seqüência de genes estruturais que são controlados por produtos dos genes reguladores, sendo um o gene operador que, por sua vez, é controlado por um gene promotor. Esse controle pode ser efetuado de maneira positiva ou negativa. A regulação positiva faz com que os produtos dos genes estruturais sejam traduzidos em enzimas efectoras, quando a bactéria encontra o substrato. Essa situação é verificada quando culturas de *E. coli* são cultivadas em presença de lactose, que resulta na expressão de lactase. A regulação negativa é verificada quando as células que estão expressando as enzimas para síntese de determinado aminoácido o recebem como suplemento alimentar. A partir desse momento, as células reprimem a tradução das enzimas envolvidas na síntese do mesmo e as que estão prontas são encaminhadas para a digestão proteossomal. Em ambas situações, cessado o aporte do substrato, o processo é revertido. Este fenômeno fisiológico recebe o nome de *feedback* ou retro-alimentação.

### ATIVIDADE



4. Considere que você trabalha cultivando um clone de bactérias de uma determinada espécie. Como saber se sua cultura é lisogênica ou indicadora para um determinado tipo de bacteriófago? Apresente sua resposta sob a forma de esquema.

---

---

---

---

---

---

---

---

### RESPOSTA COMENTADA

Já se considerando virologista, certamente você respondeu assim: Seu clone → cultivado em meio de cultura pobre → centrifugado e se recolhe o sobrenadante → passado em filtro esterilizante → inocula-se o material filtrado em clones microbianos da mesma espécie → espera-se o aparecimento de plaques no(s) clone(s) de bactérias para os quais sua cultura é lisogênica. Para saber se seu clone é indicador, você deve ter utilizado diferentes amostras de bacteriófagos que infectam a espécie microbiana do seu clone. A infecção fágica que resultar em plaques corresponde ao tipo viral para o qual o seu clone microbiano é indicador. A literatura utiliza os termos "ciclo lítico" e "ciclo lisogênico", para definir as situações que acabamos de apresentar, os quais guardam uma semântica que não expressa a verdadeira fenomenologia do processo.

Os aspectos das viroses de plantas e de bactérias, aqui abordados, não esgotam o assunto. Como você já está ciente, todos os seres vivos podem desenvolver suas viroses, dependendo da competência metabólica das suas células. Se você fizer uma pesquisa na *web*, vai se deparar com os aspectos peculiares das viroses em fungos, protozoários, insetos, lagartas, peixes, camarões, répteis, cetáceos e ao que mais lhe permitir a sua imaginação em relação aos diferentes tipos de seres vivos.

## CONCLUSÃO

As viroses em plantas e em bactérias envolvem tipos celulares bem diferentes: um eucarioto e outro procarioto, embora ambos tenham uma parede rígida envolvendo o conteúdo protoplasmático. Isto faz com que a internalização do genoma viral nesses tipos celulares seja um processo que tem de vencer, pelo menos, três barreiras. A primeira é a capa protéica do capsídio viral e, as outras duas são constituídas pela parede e a membrana plasmática celulares. Os processos físico-químicos envolvidos no fenômeno de infecção desses tipos celulares evoluíram de forma diferente. Nas bactérias, o genoma viral é injetado e, nas plantas, o tecido deve ser previamente lesionado para deixar exposto seu ambiente citoplasmático, onde as partículas de vírus devem ser depositadas. Estas últimas, ao entrarem em contato com o protoplasma, têm seu arranjo desfeito, disponibilizando assim o ácido nucléico à atividade enzimática do protoplasma vegetal. Independente do tipo de planta, a expressão da virose vai depender do potencial enzimático dos seus protoplastos, para produzir os diferentes componentes necessários à formação de novas partículas virais. Dependendo desse potencial, a infecção no vegetal evolui para a forma inaparente ou aparente, sendo estes extremos representativos, respectivamente, de uma menor ou maior competência metabólica. O efeito das viroses nas plantas pode ser considerado como fator de prejuízo ou de lucro. Da mesma forma, nas populações bacterianas de uso industrial, as viroses podem gerar prejuízo, como por exemplo nas indústrias de laticínios, onde a ocorrência de viroses de lactobacilos, com lise, prejudica o processo de fermentação do leite para coagulação. Entretanto, quando se trata de preparações de botox (toxina botulínica utilizada em Medicina estética e em Fisioterapia), ou do **TOXÓIDE** diftérico (utilizado na produção de vacina antidifteria),

### TOXÓIDE

Toxina; termo que define aquelas preparações de toxina que são submetidas à ação de substâncias químicas e perdem sua propriedade tóxica.

a infecção fágica, respectivamente, dos *Chlostridium botulinum* e das *Corinebacteria diphteriae*, representa lucro, pois essas toxinas são produtos bacterianos codificados pelo genoma viral.

As viroses em plantas, em particular o mosaico do tabaco, foram as primeiras a serem descritas e até hoje vêm contribuindo para a ampliação do conhecimento da Fisiologia celular e para o melhoramento de espécies vegetais.

O entendimento sobre o modelo de infecção viral em bactérias tem alicerçado os processos de genética molecular envolvendo transformação celular e clonagens, que resultam em culturas de células “engenheiradas”, para a produção de biofármacos e produtos enzimáticos aplicados na Biologia Molecular. Exemplo dos primeiros são os interferons e os hormônios peptídicos (insulina, somatotrofina e eritropoietina). Na segunda categoria, encontram-se as endonucleases, conhecidas como enzimas de restrição e as polimerases, utilizadas nas técnicas de PCR, RT-PCR, NASBA e outras tecnologias de ácidos nucléicos.

### **ATIVIDADE FINAL**

Vamos ver se você já se familiarizou de forma integrada com os fenômenos relacionados aos estágios iniciais das viroses em plantas e em bactérias. Para tanto, descreva como acontecem os processos de internalização da informação genética dos vírus, nas plantas e nas bactérias.

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

#### **RESPOSTA COMENTADA**

*De forma simplificada, toda infecção em tecido vegetal tem início quando a partícula viral (mono ou polipartite) é introduzida por processo mecânico no âmago do tecido vegetal, fazendo com que os vírus*

*sejam depositados no ambiente citoplasmático do corpo sincicial da planta. Este ambiente corresponde àquele onde os componentes dessa partícula viral foram sintetizados e endereçados para uma determinada área protoplasmática, onde foram montados sob a forma de um arranjo molecular. Esse mesmo tipo de arranjo é desfeito quando se encontra no local onde ocorreu a síntese. Sendo assim, deixa livre o genoma que é processado pelo metabolismo do vegetal, para a síntese de novo, de componentes virais para a construção de novas partículas.*

*Nas bactérias, a internalização do genoma dos fagos se dá por um processo de injeção no qual as partículas dos fagos, particularmente aqueles da série T par, se comportam como uma espécie de seringa especial para “engenheirar” células.*

## RESUMO

A virologia é uma ciência cheia de surpresas. Essas surpresas variam de acordo com o tipo de células envolvido com as viroses. Nas plantas cultivadas, as infecções virais podem ocorrer trazendo lucros ou prejuízos financeiros. Anatomicamente, as plantas se apresentam como um grande sincício, daí a necessidade de serem lesionadas para que os vírus sejam depositados no corpo citoplasmático do sincício. Os tipos virais que infectam plantas podem ter genoma de fita simples ou dupla, sendo DNA ou RNA. Aqueles de RNA de fita simples podem ser de fita única ou subdividida entre duas, três ou quatro partículas diferentes. O controle das infecções virais nas plantas pode ser feito por seleção de variedades naturalmente resistentes ou que desenvolvem infecção inaparente.

Nos cultivares obtidos por enxerto, é possível minimizar a virose pelo uso de cavalo livre de virose e cavaleiro premunizado.

No estudo das viroses, o modelo de infecção bacteriana tem esclarecido muitos detalhes da Fisiologia celular e contribuído para a compreensão dos processos genéticos e de Biologia Molecular, situação esta confirmada pela disponibilidade comercial de enzimas codificadas por genoma viral, sendo expressas por populações bacterianas naturalmente infectadas ou transformadas por métodos de engenharia genética.

O estudo dos bacteriófagos pode ser feito de maneira quantitativa, tomando-se como unidade a formação de focos de lise ou, simplesmente, plaques.

A propagação dos fagos somente é alcançada quando se dispõe de clones bacterianos indicadores, ou seja, aqueles com versatilidade metabólica para produzir os diferentes componentes a serem utilizados na confecção de novas partículas virais pelas células. Essa versatilidade metabólica é o principal alvo de interesse do virologista que pretende domar as células para que elas sejam capazes de “obedecer” às informações contidas no genoma viral. Para isso, utiliza meios de cultura com o mínimo essencial ao crescimento celular.

A análise físico-química dos fagos produzidos sob estas circunstâncias mostra que são constituídos de DNA ou RNA, de fita simples ou dupla, podendo conter, ainda, envelope lipídico.

A infecção por bacteriófagos pode resultar em lise da população bacteriana comprometida, mas também pode ocorrer como uma transformação celular, pois o genoma desses vírus pode ser incorporado ao cromossoma bacteriano. Nas culturas assim transformadas, alguns dos indivíduos perdem o controle de repressão do genoma viral e evoluem para lise, com produção de vírus a partir dos provírus. As culturas onde este fenômeno é observado são definidas como culturas lisogênicas, pois no sobrenadante destas, os vírus liberados por uma quantidade ínfima de elementos da população quando levados para uma cultura bacteriana indicadora, esta evolui para lise, pois seus integrantes são células com repertório enzimático apropriado à produção de vírus.

### INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

Viroses na Natureza são fenômenos característicos dos seres vivos que, contaminados, podem sobreviver ou sucumbir à infecção, dependendo da quantidade de células competentes para tal que eles possuam. Nos animais, a maneira de expressão das viroses e a forma como se recuperam espontaneamente destas são temas a serem abordados na próxima aula.

## **SITES RECOMENDADOS**

<http://www.geocities.com/RainForest/2038/envmicro/envmicrop.htm>

[http:// www.micro.msb.le.ac.uk/Labwork/grow/grow1.htm](http://www.micro.msb.le.ac.uk/Labwork/grow/grow1.htm)

<http://www.iac.sp.gov.br>

[http://www.embrapa.br:8080/aplic/bn.nsf/ Noticias?OpenView](http://www.embrapa.br:8080/aplic/bn.nsf/Noticias?OpenView)



## Cura espontânea nas viroses de animais

### Meta da aula

Evidenciar que as viroses são desenvolvidas por organismos que apresentam células competentes à produção de componentes virais e que a cura nas viroses depende de mecanismos próprios da comunicação celular.

# objetivos

Esperamos que, após estudar o conteúdo desta aula, você seja capaz de:

- descrever os mecanismos fisiológicos que permitem ao organismo curar-se espontaneamente das viroses;
- identificar a maior ocorrência das viroses, em relação às outras infecções;
- citar as formas de contaminação nas viroses;
- justificar por que as viroses podem ser definidas como fatores de seleção;
- discutir como as viroses influenciam o relógio biológico dos seres humanos.

### Pré-requisitos

Para que a sua compreensão desta aula flua melhor, você deve recordar a Aula 4 onde foram apresentados os produtos celulares. Precisa ter sedimentados os conceitos de viroses aprendidos nas Aulas 15 e 16, que devem estar à mão para eventuais consultas. Você vai precisar também recordar os tipos de sinalização celular apresentados nas Aulas 13 e 14 de Biologia Celular. Além disso, será muito proveitosa a releitura das Aulas 31, 32 e 33 de Bioquímica II, para você lembrar os hormônios e sua importância na fisiologia orgânica.

## INTRODUÇÃO

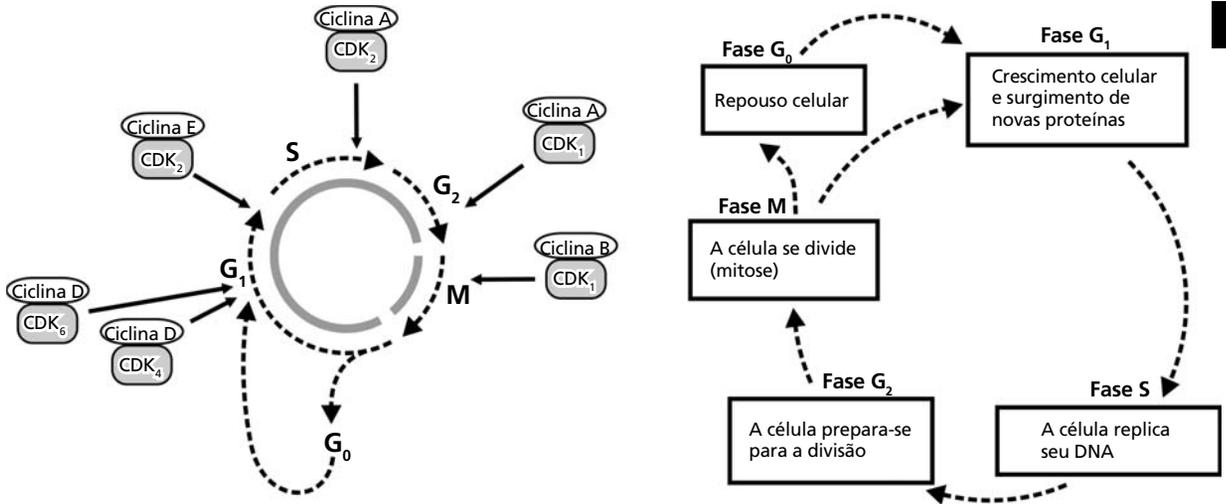
Você já percebeu que viroses só acontecem em células vivas e, portanto, qualquer tipo de ser vivo é passível de desenvolver viroses. Partindo dessas premissas decorrentes de uma infecção viral, e compreendendo que a disfunção celular ou tecidual no organismo humano é resultante das alterações nos processos fisiológicos celulares, é necessário lembrá-los, o que será feito na primeira parte desta aula, onde você verá como as células que compõem o corpo humano se comportam para desempenhar suas funções e como as viroses levam à disfunção. Verá, mais adiante, como as viroses se constituem em elementos de seleção das espécies animais na Natureza.

## AS BASES FISIOLÓGICAS PARA A COMPREENSÃO DO EFEITO DAS VIROSES NO ORGANISMO HUMANO

Um ser humano adulto é formado por algo em torno de 100 trilhões de células, que estão, na sua grande maioria, constantemente sendo renovadas, portanto, diferenciando-se para compensar o desgaste que ocorre nos diferentes órgãos ou tecidos: articulações, vasos sanguíneos, pele, mucosas, elementos figurados do sangue e células dos diversos órgãos.

Essa reposição, em média, é de vinte bilhões de células/hora. Como exemplo marcante, podemos lembrar da medula óssea que gera os diversos elementos figurados presentes na corrente sanguínea e, dentre estes, produz, aproximadamente, 2 milhões de eritrócitos por segundo, que são liberados na corrente sanguínea sob a forma de hemácias.

Esse constante estado de renovação tecidual se deve às células somáticas que executam mitose. O processo de multiplicação celular é uma atividade cíclica que envolve diferentes estágios de diferenciação, como você pode ver no esquema apresentado na **Figura 17.1**. Cada uma destas fases ( $G_1$ , S,  $G_2$ , M) tem a participação de enzimas que podem ser específicas de cada fase e/ou comuns a mais de uma das fases.



Legenda: CDK – Quinase dependente de Ciclina.

**Figura 17.1:** Resumo das fases do ciclo mitótico de um tipo celular, mostrando os momentos de ação das diferentes **QUINASES** e **CICLINAS**.

Você deve estar pensando: se a multiplicação celular é um processo normal de diferenciação, então, as células devem passar por uma atividade anabólica. É verdade! Para poderem se multiplicar, as células têm de crescer e para crescer têm de comer. Para isso, a célula precisa capturar elementos energéticos e nutrientes, presentes no ambiente extracelular, e o faz utilizando-se dos receptores de que dispõe na membrana plasmática, que estão em constante renovação. Alguns desses receptores você estudou na Aula 15. A partir do material ingerido, as células utilizam o equipamento enzimático para duplicarem os seus constituintes nucleoprotéicos, glicídicos e lipídicos.

Num sistema fechado, como é o corpo humano, no qual a quantidade de nutrientes, como por exemplo a glicose, é mantida em equilíbrio, para que um grupo de células prolifere é necessário que outro ou outros grupos deixem de proliferar. É isso que ocorre no corpo humano, pois a insulina é produzida em doses ínfimas e as células só conseguem internalizar glicose se antes capturarem insulina. Isso você viu nas Aulas 31, 32 e 33 de Bioquímica. Para tanto, precisam sintetizar os receptores para este hormônio e impedir que outras células o capturem. O artifício utilizado pelas células é o seguinte: a célula que primeiro entrar na fase de anabolismo, sintetiza e secreta um grupo de citocinas que tem

#### QUINASES

Enzimas que promovem a ativação ou a inativação das moléculas ao fosforilá-las.

#### CICLINAS

Proteínas envolvidas nas diferentes etapas do ciclo mitótico.

### INTERFERONS

Substâncias protéicas descritas pela primeira vez por Isaacs e Lindenmann, em 1957, a partir de experimentos em que era observado o fenômeno de interferência. Esse experimento consistiu em inocular uma preparação de vírus da influenza, previamente inativada, em um sistema celular e, após 24 horas, reinocular este sistema com uma preparação infecciosa do mesmo tipo de vírus. Verificaram então que o efeito esperado da infecção viral não acontecia no sistema pré-inoculado, embora fosse visível no controle sem a prévia inoculação. Os pesquisadores concluíram os estudos obtendo a substância responsável pela interferência e, devido a este fenômeno peculiar, a denominaram interferon. Em razão destes experimentos, criou-se a lenda dos interferons serem antivirais, quando na verdade são produtos fisiológicos que, ao induzirem na célula um estado de inibição de síntese protéica, bloqueiam a síntese de qualquer proteína pela célula, inclusive as virais. Mas preste atenção: como produto natural que é, ele deve existir em um nível fisiológico, como qualquer hormônio, e o desequilíbrio nesse nível promove alterações que, geralmente, são prejudiciais ao organismo.

o nome de **INTERFERONS**. Estes exercem seus efeitos biológicos induzindo as células, às quais se ligam, a retardarem ou paralisarem o processo de síntese protéica que estão executando. Esse efeito pode ser exercido de maneira parácrina ou endócrina (conceitos que você aprendeu nas Aulas 13 e 14 de Biologia Celular), ou seja, atuam, respectivamente, sobre as células vizinhas ou de forma sistêmica (à distância). As células atingidas param de reciclar os seus receptores, dentre os quais os de insulina e, assim, em virtude do déficit energético, passam do estado de anabolismo para o de catabolismo. Nesse estado de catabolismo, as células ficam impedidas de sintetizar novos componentes protéicos. Dessa forma, nem sintetizam seus componentes essenciais, nem traduzem informações contidas em genomas nelas internalizados.

Esse estado de disfunção celular pode ser instalado, de maneira sistêmica, no corpo de uma pessoa, quando lhe é injetado interferon em altas doses. Como consequência, o indivíduo passa a apresentar sintomas que se assemelham a um estado gripal, incluindo coriza, lacrimejamento, fadiga, febre, dor muscular (mialgia) e dor de cabeça (cefaléia), podendo ainda ser acompanhados de calafrios, enjôo (náuseas) e falta de apetite (anorexia). Esse conjunto de sintomas ocorre em pessoas ou animais que recebem injeções de interferon e é sinal de que a droga está ativa.

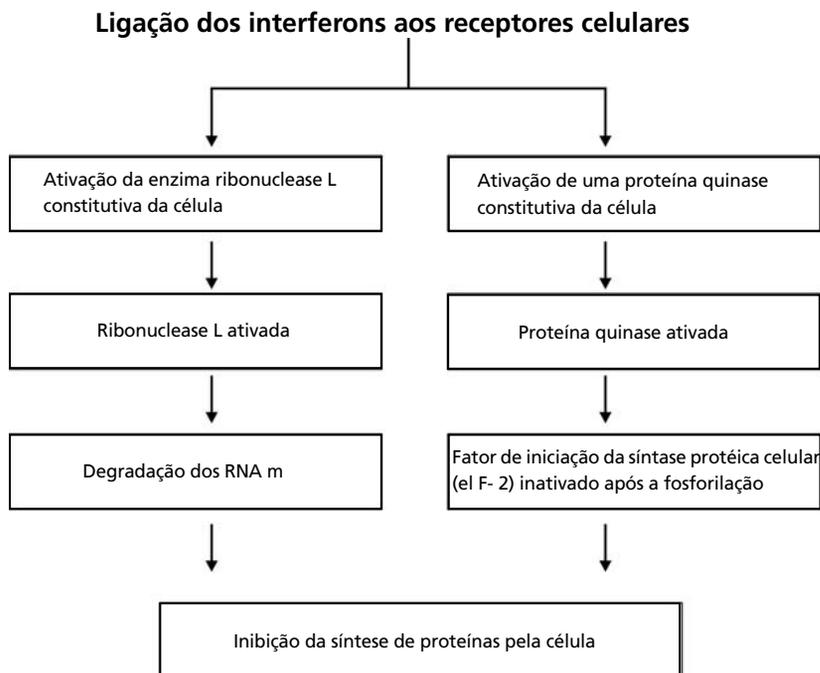
**Utilização dos IFNs** – Para alguns tipos de câncer e de viroses crônicas, como é o caso da Hepatite C, dentre outras, os pacientes são submetidos a doses semanais de 3 a 10 milhões de unidades internacionais de IFN (tipo alfa humano clonado em bactérias), divididas em três aplicações, em dias alternados durante, pelo menos, seis meses. Como esta é uma quantidade muito acima do nível fisiológico e os IFNs atuam sobre qualquer célula que exiba os receptores para esta substância, não sendo seletivo para as células que alteraram sua função, é fácil prever que o indivíduo terá sua qualidade de vida bastante alterada. Os exames sorológicos feitos nessas pessoas mostram que há uma diminuição da síntese protéica, de maneira geral, que é percebida pela grande perda de peso, plaquetopenia e carência de energia física e mental apresentadas por elas. Além disso, conforme dados da literatura, 36 a 80% dos submetidos a esse tipo de tratamento, que pode durar até 18 meses, se sobreviverem, continuarão com o quadro que gerou a indicação do início do tratamento, como você pode ver em Cheinquer, H. & Schiff, E. "Uso de Interferon em Hepatites Virais". In: FOCACCIA, Roberto. Hepatites Virais. Editora Atheneu: 1997, pp. 141-156.

### CARACTERÍSTICAS DOS INTERFERONS ( $IFN_3$ )

Quimicamente, os interferons são proteínas que, de acordo com o tipo de células que os produzem, são classificados como  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ . Os interferons dos tipos  $\alpha$  e  $\beta$  são produzidos pelas células fibroblásticas

(somáticas), leucocitárias (monócitos, macrófagos e células dendríticas) e linfoblastóides (linfócitos B). Já o interferon do tipo  $\gamma$  é produzido por linfócitos T e, por isso, também é denominado interferon imune. Fisiologicamente, os interferons do tipo  $\beta$  atuam de forma parácrina, enquanto os dos tipos  $\alpha$  e  $\gamma$  exercem seus efeitos de forma endócrina, semelhante às ações dos hormônios peptídicos, como a **INSULINA** e a **SOMATOTROFINA**.

O efeito biológico dos interferons tem início quando essas moléculas interagem com os receptores celulares. De acordo com o tipo de receptor, com o qual pode se ligar, são classificados apenas dois tipos de interferons: no tipo I estão incluídos todos aqueles que compartilham o mesmo receptor ( $\alpha$ ,  $\beta$  e outros a estes assemelhados) e no tipo II encontra-se o  $\gamma$ , que tem receptor privativo. No interior das células, com as quais os interferons interagem, verifica-se uma seqüência de eventos enzimáticos, que resulta na inibição da síntese protéica celular. Na **Figura 17.2** você pode perceber como ocorre esse mecanismo de ação dos interferons.



**Figura 17.2:** Efeito da sinalização dos IFNs sobre as células não linfocitárias: o bloqueio da síntese protéica nas células sinalizadas com interferon se faz por duas vias: pela degradação dos RNA m e por inibição do alongamento dos peptídios em formação.

#### INSULINA E SOMATOTROFINA

Hormônios de natureza protéica, originários, respectivamente, das ilhotas de Langherans (pâncreas) e da hipófise (cérebro). O primeiro participa do metabolismo dos carboidratos e o segundo, do crescimento corporal. Embora a origem glandular dos hormônios seja fato sacramentado pela literatura médica, a maioria dos hormônios peptídicos presentes no corpo é produzida pelos leucócitos, que também apresentam receptores para eles. Se isto é novidade para você, procure a fonte: Brown, S.L. and Blalock, J, 1990, obra citada nas referências desta aula.

Fisiologicamente, as células ao liberarem IFN contribuem para que suas vizinhas freiem a síntese protéica e passem para o estado de catabolismo, durante o qual fazem a degradação proteassomal das proteínas neoformadas, como você viu na Aula 15. Essa situação pode ser facilmente registrada em pessoas que tomam interferon ou naquelas que estão acometidas de uma forte virose. A sensação de mal-estar pode ser assim explicada: as células sensibilizadas pelos interferons reduzem a produção dos seus receptores de superfície e, com isso, deixam de capturar muitos dos produtos que lhe são essenciais. Se considerarmos este fato ocorrendo, por exemplo, com as células musculares, estas, ao diminuírem a captura de oxigênio para obtenção de energia, deixam de fazer respiração e passam a fazer fermentação. Com isso, produzem ácido láctico e este reage com os íons  $Ca^{++}$ . Sem  $Ca^{++}$  a fibra muscular fica impossibilitada de despolarizar e o músculo permanece relaxado. Esta situação é conhecida como câibra. A pessoa em quem este fenômeno acontece, de forma sistêmica, passa a apresentar dores musculares generalizadas, em razão da disfunção instalada.

**INTERFEROSE  
(INTERFERON + OSE)**

Conjunto de sinais ou sintomas apresentados pelo corpo de um indivíduo com nível sistêmico elevado de interferon.

**MEGACARIÓCITO**

Célula de grandes dimensões produzida na medula óssea, dotada de núcleo grande e irregularmente lobulado. Precursora das plaquetas, elementos sangüíneos que são apenas fragmentos citoplasmáticos dos megacariócitos. As plaquetas desempenham importante papel na coagulação sangüínea (seu número, em condições normais, oscila entre 200 e 300 mil por milímetro cúbico de sangue).

**Contração muscular:** processo que envolve fenômenos elétricos e mecânicos, que começam na placa motora da terminação nervosa e são transmitidos ao longo dos feixes de actina e miosina que compõem os elementos contráteis da fibra muscular, dependentes de íons  $Ca^{++}$  para exercerem a função.

A disfunção muscular é facilmente percebida pelo cansaço, dor nas costas, as pálpebras superiores ficam caídas, o tônus dos músculos faciais fica flácido, levando a uma aparência de sofrimento. Você já viu alguém assim ou já se sentiu desta forma? Os outros tecidos do corpo também se ressentem da **INTERFEROSE**. Os neurônios, que normalmente estão efetuando suas conexões, "emperram". O que você sente? Dor de cabeça! Experimente, nessas condições, fazer uma conta de multiplicar, e... onde foi parar o seu poder de concentração? E ainda tem a febre, que o induz a pedir cama. Nos outros tecidos como, por exemplo, a medula óssea, pele e mucosas, esse efeito resulta na diminuição da velocidade de geração celular (tempo de geração aumentado). Com isso, os níveis normais dos elementos sangüíneos, monócitos, granulócitos e plaquetas, decaem rapidamente. Os dois primeiros por retardamento na mitose dos seus precursores e as plaquetas por redução no crescimento citoplasmático dos **MEGACARIÓCITOS**.

Quando, após a sensibilização com interferon, as células do corpo evoluem para o estágio de catabolismo, ficam impossibilitadas de sintetizar novos produtos protéicos.

Sob esse estado de interferose, qualquer animal fica lerdo e desatento. Essa situação é diretamente proporcional à quantidade de interferon presente no organismo e tende a desaparecer após três a quatro dias do início da interferose.

### ATIVIDADE



1. Examinando as ilustrações apresentadas nas **Figuras 17.1 e 17.2**, explique em que fases do ciclo celular pode ser exercida a inibição mediada pelos interferons.

---



---



---

### RESPOSTA COMENTADA

*Você entendeu que, durante o ciclo celular, a célula para passar de uma fase a outra necessita dispor das proteínas responsáveis pelas transformações metabólicas características de cada uma das fases. Logo, se for adicionado interferon do tipo alfa, a uma população celular, mantida in vitro, espera-se observar que, independente do estágio em que se encontrem ( $G_0 \rightarrow G_1$ ;  $G_1 \rightarrow S$ ;  $S \rightarrow G_2$  e  $G_2 \rightarrow M$ ) elas param a diferenciação, pois as mudanças fisiológicas dependem de um estado de anabolismo, ou seja, dependem da síntese de proteínas. Por outro lado, da fase M para a  $G_1$ , esta transformação é mediada por um processo catabólico. Como você foi perspicaz, percebeu que no ciclo da **Figura 17.1**, as setas posicionadas no sentido horário indicam anabolismo. A exceção são os linfócitos, sobre os quais os interferons, ao invés de bloquear a síntese protéica, os estimulam à proliferação mitótica.*

## SISTEMA ENDÓCRINO

As **FUNÇÕES NEUROENDÓCRINAS** têm importância vital para o bem-estar do corpo cuja homeostase depende do equilíbrio entre a produção e o consumo dos hormônios pelo organismo.

### FUNÇÕES NEUROENDÓCRINAS

São relativas a atividades ou fenômenos nervosos e endócrinos.

Toda a seqüência dos acontecimentos orgânicos tem origem no cérebro, em particular na glândula hipófise que é a responsável pela produção dos hormônios que por um controle de *feedback* regulam o relógio biológico ou ritmo circadiano (cerca de um dia). Este é o ritmo biológico que rege, de forma repetitiva, as características fisiológicas próprias a cada espécie, animal ou vegetal. Como exemplo, nos seres humanos, ter sono à noite e despertar pela manhã. Dentre os hormônios envolvidos neste ciclo destacam-se o Adenocorticotrófico (ACTH) e o cortisol. Quando a quantidade de cortisol no organismo está alta o nível de ACTH está baixo e vice-versa. Isto é consequência do *feedback* envolvendo as glândulas hipófise e supra-renais. Estas últimas são produtoras do cortisol (preste atenção: o cortisol é o hormônio natural, fabricado pelo corpo e corticóide é esse produto industrializado). A molécula deste hormônio tem como base o colesterol e para sua maior fixação recomendamos que você consulte outras fontes e desenhe as fórmulas químicas do colesterol e dos hormônios da supra-renal.

**HIPÓFISE**

Glândula endócrina, de funções múltiplas, localizada na parte inferior do cérebro, também denominada glândula pituitária. Dentre outras coisas, regula a atividade de outras glândulas, como a tireóide e a supra-renal.

**ACTH**

Hormônio adenocorticotrófico produzido pela glândula pituitária, que estimula a produção de hormônios corticosteróides pelo córtex das supra-renais.

A Figura 17.3 apresenta um *feedback* fisiológico envolvendo o ACTH produzido pela HIPÓFISE e o cortisol da supra-renal. Este último é responsável pelo estado de vitalidade de um organismo animal e sua produção é regida pelo estímulo luminoso. Na Figura 17.4 você pode observar que a produção do cortisol se dá, preferencialmente, durante o sono. A quantidade de cortisol presente no plasma de um indivíduo acordado é determinante da sua disposição para o trabalho e o lazer e quando essa concentração diminui, vem o cansaço e o sono reparador.

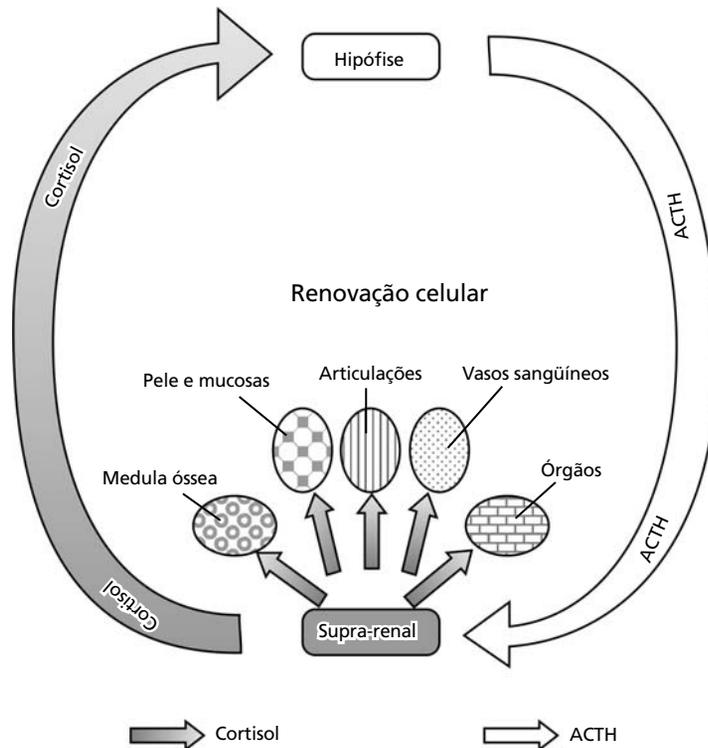


Figura 17.3: Funcionamento do eixo hipofise/supra-renal responsável pelo ritmo circadiano (relógio biológico) que regula o sono e o despertar dos indivíduos.

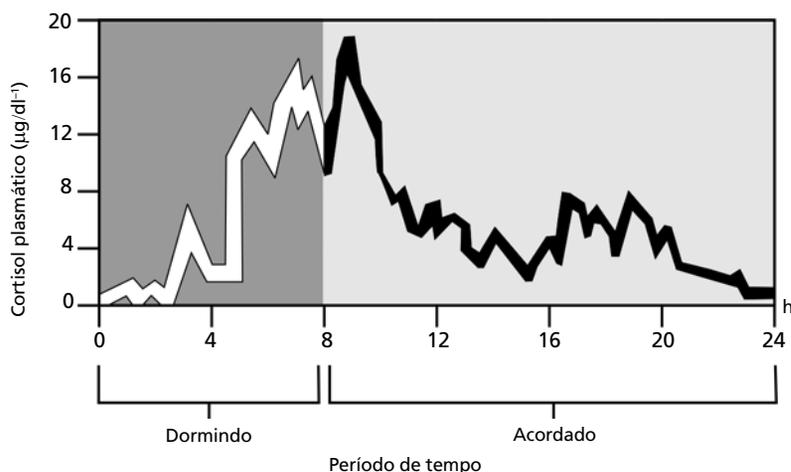


Figura 17.4: Balanço da produção de cortisol em um período de 24 horas.

## AS VIROSES DO NOSSO COTIDIANO

Agora que já recordamos a fisiologia pertinente ao corpo de um animal, vamos às viroses: você verá neste momento da aula como se dá a transmissão, como ocorre a cura espontânea e como essas infecções influenciam na seleção das espécies na Natureza.

Como você está lembrado da Aula 15, os dados estatísticos da OMS mostram que  $2/3$  de todas as doenças infectocontagiosas que acometem os seres humanos são viroses. É possível realizar uma verificação estatística disso, em pequena escala, se fizermos em qualquer grupo, a seguinte pergunta: quem já teve *viroses* (por exemplo: gripe, sarampo, rubéola, herpes, catapora, dengue, verruga, caxumba); bacterioses (por exemplo: febre tifóide, sífilis, gonorréia, tuberculose, hanseníase, cólera, leptospirose, erisipela, febre maculosa); *micoses* (por exemplo: sapinho (candidíase), pé-de-atleta, tinha, micose nas unhas, pano-branco); *parasitoses* (por exemplo: esquistossomose, malária, doença de Chagas, amebíase, teníase)?

### ATIVIDADE



2. Faça uma pesquisa entre as pessoas do seu relacionamento (familiares, colegas de trabalho, vizinhos, amigos), no mínimo vinte pessoas. Nessa pesquisa, eles devem informar se já desenvolveram alguma das viroses, bacterioses, micoses ou parasitoses que constarão da lista que você fornecerá aos seus entrevistados, para que eles possam identificar cada desses grupos. Após isso, você calculará o percentual de pessoas que já tiveram esses tipos de contato.

---

---

---

### RESPOSTA COMENTADA

*Seu número total de entrevistados corresponde a 100% da sua amostragem. Fazendo regras de três simples, você encontrará o percentual de indivíduos que relatam haver tido cada uma dessas infecções. Você vai perceber que os seres humanos são cercados de viroses por todos os lados.*

*No entanto, levando em conta que não há remédios específicos para viroses, todos no grupo tiveram suas viroses e se curaram. Será que, refletindo sobre a fisiologia celular, você já poderá sugerir como ocorreu essa cura espontânea? Se não conseguir, não se preocupe, pois esse assunto será aprofundado mais adiante.*

### ANTROPOCÊNTRICO

Que atribui ao ser humano uma posição de centralidade em relação a todo o universo, seja como um eixo ou núcleo em torno do qual estão situadas espacialmente todas as coisas.

Partindo-se de um caráter **ANTROPOCÊNTRICO**, podemos reconhecer que o contágio das viroses pode ocorrer sob três circunstâncias: uma conhecida como transmissão horizontal, a outra como transmissão vertical e ainda a transmissão tangencial. Exemplos de transmissão horizontal e tangencial encontram-se esquematizados na **Figura 17.5**.

1. Transmissão horizontal – é aquela que ocorre de indivíduos contaminados para sadios. Nesta forma de transmissão, as pessoas podem adquirir as suas viroses: através das mucosas, ao ingerir alimentos contaminados; ao falar saúde quando alguém espirra ao seu lado (já imaginou quantos perdigotos contaminados você engole ou atingem a sua conjuntiva?); ao beijar na boca; ao ter relações sexuais promíscuas.

2. Transmissão vertical – aquela que ocorre de indivíduo que já nasceu para um não-nascido. Nesta categoria, encontram-se as viroses transmitidas da gestante para o feto, e a infecção é dita “adquirida *in utero*”. Como sempre tem de haver exceções, a infecção transmitida pelo aleitamento também é considerada como uma forma de transmissão vertical.

3. Transmissão tangencial – relacionada a acidentes, envolvendo mordida de animais; picada de artrópodes vetores; injeções com agulhas contaminadas; terapia sanguínea ou por hemoderivados contaminados; hemodiálise com equipamento contaminado; inalação de excretas de roedores.

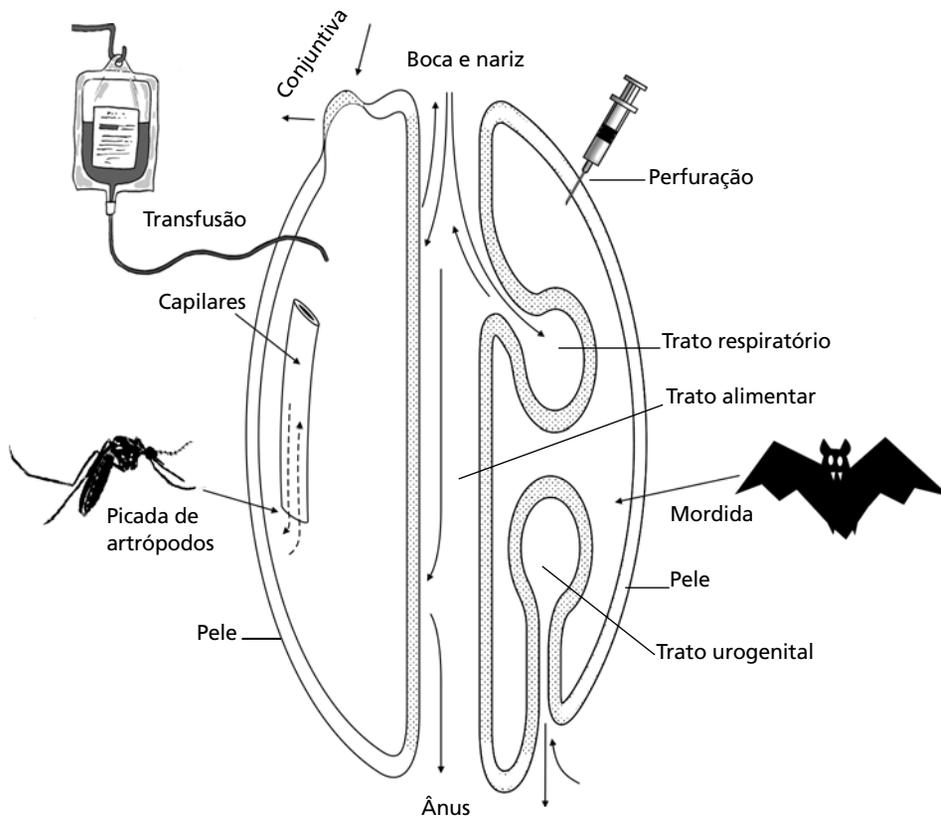


Figura 17.5: Sítios e algumas fontes de contaminação por partículas virais.

**ATIVIDADE**



3. É provável que você já tenha sido acometido por uma virose, adquirida por uma das três formas de transmissão descritas. Agora sua tarefa é pesquisar na *web* qual a forma *predominante* de transmissão para os seres humanos das trinta viroses listadas a seguir: raiva; rubéola; sarampo; caxumba; hepatite A; hepatite B; hepatite C; hepatite B/D; hepatite E; herpes simples; gripe (influenza); dengue; verruga; poliomielite; febre hemorrágica de Ebola; mononucleose infecciosa; doença citomegálica; gastroenterite; varicela (catapora); varíola; coxsackiose; febre amarela; coronavírus (SARS); síndrome da imunodeficiência humana adquirida (AIDS); adenovirose; febre do oeste do Nilo; parvovirose; hantaanvírose; arenavirose; rinovirose.

Se na transmissão houver a participação de um vetor, cite o tipo de animal envolvido. Se por acaso houver viroses com mais de uma forma de transmissão, posicione-as nas diversas categorias.

---



---



---

**RESPOSTA COMENTADA**

Como foi pedida a forma de transmissão predominante (e não as exceções), esperamos que você tenha feito a distribuição da seguinte forma:

<b>Virose de transmissão horizontal</b>	<b>Virose de transmissão vertical</b>
<p><i>Rubéola, sarampo, caxumba, hepatite A, hepatite B, hepatite B/D, hepatite E, herpes simples, gripe, verruga, poliomielite, mononucleose infecciosa, doença citomegálica, gastroenterite, varicela, varíola, coxsackiose, AIDS, SARS, adenovirose, parvovirose, rinovirose.</i></p>	<p><i>Rubéola, doença citomegálica, AIDS, parvovirose.</i></p>

<b>Virose de transmissão tangencial</b>	<b>Vetor</b>
<i>Raiva</i>	<i>Cão, gato, morcego hematófago, sagüi guaxinim.</i>
<i>Dengue</i>	<i>Mosquitos Aedes aegypti.</i>
<i>AIDS</i>	<i>Hemoderivados e instrumentos perfuro-cortantes contaminados.</i>
<i>Febre amarela</i>	<i>Mosquitos Aedes aegypti (no ambiente urbano) e Haemagogus spegazzini (ambiente silvestre).</i>
<i>Hepatite B</i>	<i>Hemoderivados e instrumentos perfuro-cortantes contaminados.</i>
<i>Hepatite C</i>	<i>Hemoderivados e instrumentos perfuro-cortantes contaminados.</i>
<i>Hepatite B/D</i>	<i>Hemoderivados e instrumentos perfuro-cortantes contaminados.</i>
<i>Hantaanvirose</i>	<i>Excretas de roedores silvestres.</i>
<i>Febre do oeste do Nilo</i>	<i>Mosquitos Culex spp.</i>
<i>Arenavirose</i>	<i>Excretas de roedores silvestres.</i>

*Se a resposta gerou dúvidas, entre em contato com a tutoria à distância da disciplina.*

Quando as células de um tecido entram em contato com uma partícula viral, como você já viu na Aula 15, a célula faminta, sem titubear, vai capturar aquele manjar (lembre-se de que os vírus podem ter tudo que ela precisa: aminoácidos, carboidratos, lipídios e bases nitrogenadas). Essa captura é feita pelo processo de endocitose, pois a dimensão das partículas virais permite esta atividade uma vez que, fisiologicamente, as células podem endocitar partículas com até 200nm. Acima dessa dimensão, o engolfamento é feito por fagocitose. O que diferencia essas duas formas de ingestão é que na endocitose a vesícula com o material ingerido é transportada para ser digerida pelos lisossomos. Já na vesícula fagocítica, o material é primeiramente digerido até formar pequenas vesículas que, então, serão transportadas para a digestão final. A representação esquemática da endocitose pode ser observada na **Figura 17.6**.

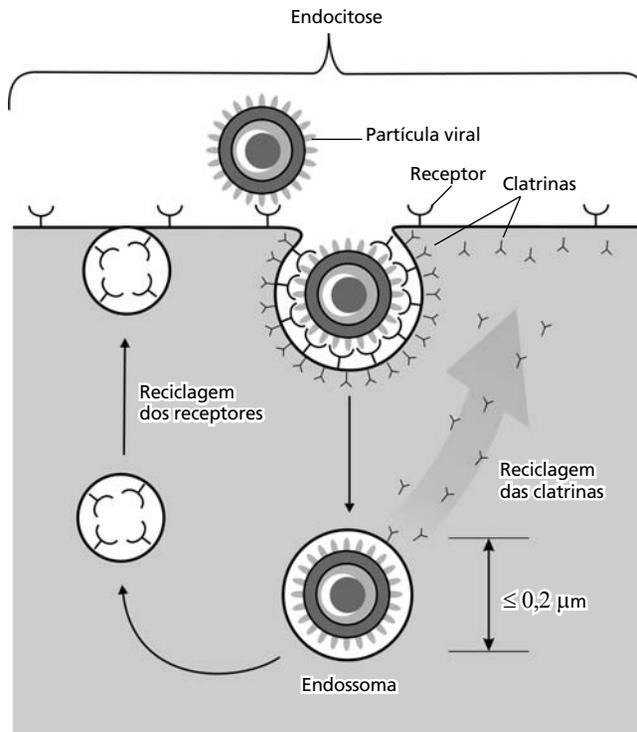


Figura 17.6: Representação esquemática da endocitose.

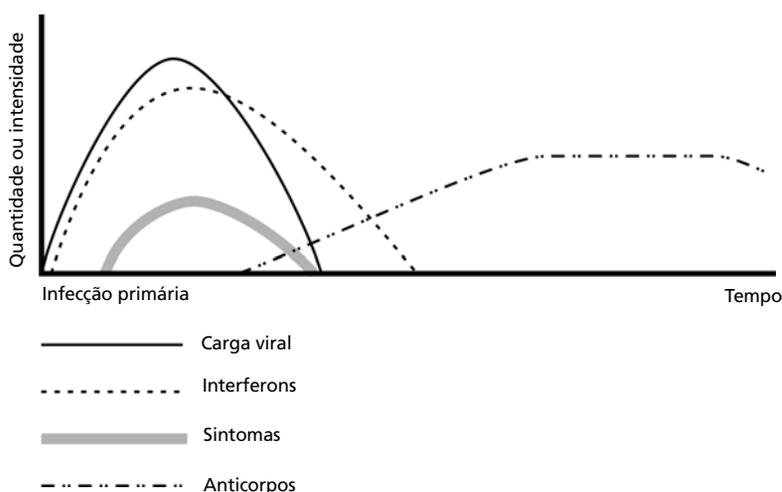
Depois dessa captura, como os vírus são arranjos moleculares especializados em transferir ácido nucléico para o interior das células, se a célula for competente (possuir repertório enzimático capaz de atender à síntese dos componentes virais), ela processará o genoma viral. Mas veja bem! Ela só faz aquilo que pode e que é aprovado pelo seu sistema de controle de qualidade, portanto, só vai sintetizar os componentes virais se essa síntese for compatível com o seu metabolismo. Por isso, podemos concluir que só tem virose quem pode e, dentre aqueles que podem, há pessoas com muitas células competentes e outras com poucas.

Dessa forma, o comprometimento de cada indivíduo com uma determinada virose está diretamente relacionado com a proporção de suas células competentes para aquele tipo de infecção, conforme você pode rever na Atividade 1 da Aula 15.

A maioria das pessoas pode desenvolver viroses sem sinais e sintomas. Naquelas com sintomas, algumas sucumbem e outras se recuperam. Essa recuperação ou cura espontânea deve-se, principalmente, à diminuição gradual das células competentes no corpo do indivíduo infectado, à medida que elas vão sendo gastas na produção de vírus e não são repostas.

As células competentes são responsáveis pela produção de virions e, conforme você pode observar na **Figura 17.7**, a produção de vírus é tanto maior quanto maior for a quantidade de células competentes comprometidas. A produção de vírus vai aumentando até atingir o ápice e depois decai. Esse decaimento é diretamente proporcional à redução do número das células produtoras. A redução do número destas células deve-se às seguintes situações:

1. morte dessas células que esgotam seus componentes vitais na produção dos vírus;
2. bloqueio parcial ou total do processo de renovação delas pelo efeito dos interferons sobre as células precursoras.



**Figura 17.7:** Eventos que ocorrem durante uma virose, após a infecção primária.

Analisando a **Figura 17.7**, onde estão representados os níveis dos elementos encontrados no sangue durante uma **VIROSE APARENTE**, você pode perceber que, à medida que os vírus vão sendo produzidos, o nível de interferons (IFN) vai aumentando e a apresentação dos sintomas ocorre acompanhando essa produção. Ao examinar o aspecto das curvas, em relação ao tempo, você pode usar uma régua posicionada na vertical. Logo no início você vai perceber que: as curvas de produção de vírus e de interferons seguem paralelas, com um pequeno retardo da última; o pico de produção de vírus coincide com o mais alto nível de interferons e de sinais e sintomas. O quadro sintomático tende a melhorar à medida que a quantidade de vírus produzida diminui, até atingir a cura. A quantidade

### VIROSE APARENTE OU SINTOMÁTICA

É aquela com apresentação de sinais e sintomas, que podem ser brandos (moderados) ou intensos (graves, podendo inclusive ser fatais). Essa gradação nos níveis de sinais e sintomas guarda relação direta com a extensão da lesão nos tecidos comprometidos. Quanto maior o número de células envolvidas no processo de produção dos componentes virais, maior será a lesão e, conseqüentemente, a disfunção orgânica responsável pelo aparecimento dos sinais e sintomas. Na virose inaparente, o número de células comprometidas não é suficiente para que se instale a disfunção. Por isso, lembre-se de que só tem virose quem pode.

**CARGA VIRAL**

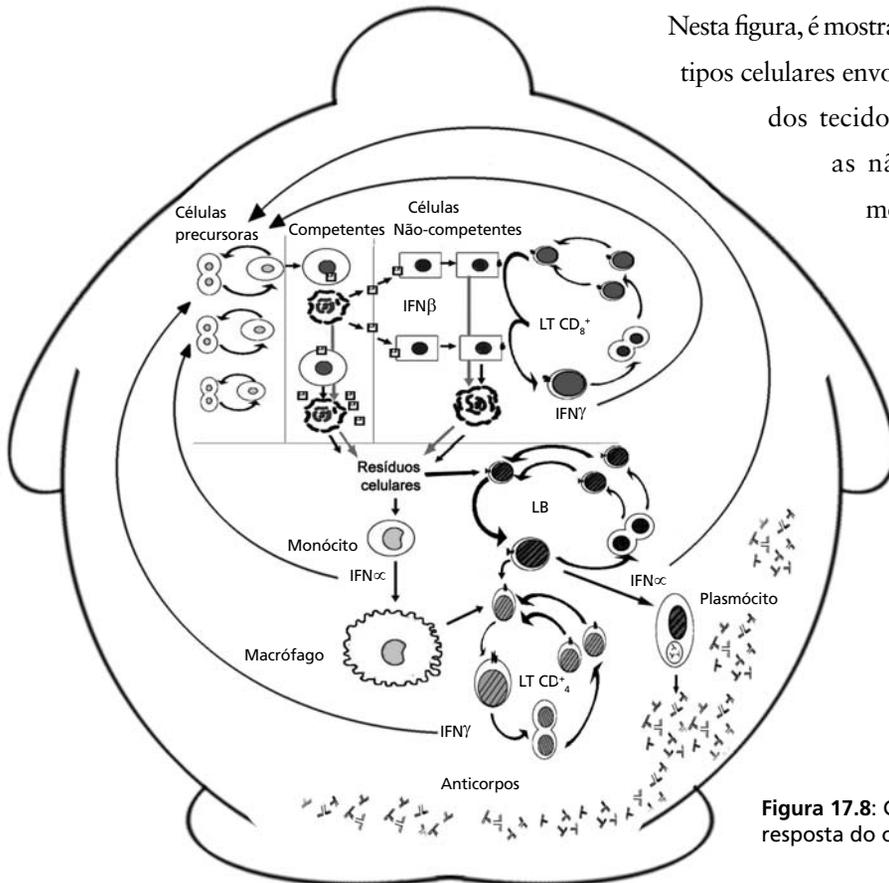
Corresponde à quantidade de vírus encontrada no sangue (viremia) de um indivíduo infectado. Essa quantidade é diretamente proporcional ao número de células competentes existentes no corpo deste indivíduo.

de interferons no corpo decai em paralelo com o quadro dos sintomas, embora os níveis de interferon permaneçam mais tempo. Enquanto os níveis de interferon estiverem detectáveis, você pode estar se sentindo mal, mas, em compensação, está refratário a uma outra infecção viral. Os interferons aqui referidos são, principalmente, do tipo gama e alfa (que são sistêmicos). Nesse sentido, o seguinte quadro pode ser observado: o IFN gama predominando da fase inicial até o término dos sintomas e o IFN alfa, na fase final, pois este está relacionado com o aumento populacional dos clones de linfócitos B, envolvidos com a produção de anticorpos.

Você pode notar que a produção de anticorpos só passa a ser detectada quando já teve início o processo da cura, pois este tem início quando começam a decair a **CARGA VIRAL** e a intensidade dos sinais e sintomas.

Para entender, ao nível celular, os eventos que ocorrem no corpo do indivíduo que, acometido de uma virose, cura-se espontaneamente, acompanhe a descrição que será feita a seguir com base na **Figura 17.8**.

Nesta figura, é mostrada a participação dos diversos tipos celulares envolvidos: as células precursoras dos tecidos; as células competentes e as não-competentes; as células monocitárias que atuam como fagócitos para remoção de resíduos ou de carcaças celulares; e os diversos tipos de linfócitos que intervêm no processo.



**Figura 17.8:** Cooperação celular na resposta do organismo às viroses.

No quadrante superior esquerdo da **Figura 17.8**, estão representadas as células precursoras, responsáveis pela renovação natural dos tecidos nos seres vivos. Quando esta renovação atende às células competentes para a produção de virions, possibilita a expansão da virose. Esta expansão continua enquanto existirem células com esta característica no órgão ou tecido comprometido. Se a proporção destas no indivíduo for muito grande (entenda-se alta eficiência de infecção), a disfunção gerada poderá levar à completa destruição das células do órgão comprometido, levando-o à falência, da mesma forma como é observado nas culturas indicadoras bacterianas que evoluem para lise, como você viu na Aula 16.

Nos casos onde se observa a cura espontânea, a eficiência de infecção é menor graças à menor proporção dessas células competentes em relação às células não-competentes, no corpo do indivíduo. Na figura que estamos analisando, as células não-competentes estão representadas de forma retangular. A contaminação destas é acompanhada pela produção de componentes virais que, ao serem reprovados no controle de qualidade, são submetidos à **UBIQUITINAÇÃO** para depois serem degradados pela ação proteossomal das células. Por se tratar de componentes não codificados pelo genoma celular, a degradação se faz de forma incompleta. Os resíduos resultantes são exocitados em associação com as moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) da classe I, pois os MHC desta classe somente expõem resíduos dos componentes que foram produzidos pela própria célula.

Ubiquitina - proteína de 76 aminoácidos, cujo nome deve-se à sua presença em todos os tipos de células. Para as proteínas, a marcação da proteína com a ubiquitina pode ser considerada como um "beijo da morte", pois a partir desse contato são encaminhadas para serem fragmentadas em pequenos pedaços, até a total digestão, quando esta for possível. A descoberta das ubiquitinas e a participação destas na atividade proteossomal deve-se às pesquisas efetuadas por Aaron Ciechanover e Avram Hershko no Instituto de Tecnologia de Israel, na cidade de Haifa, e por Irwin Rose na Universidade da Califórnia, na cidade de Irvine, EUA, cujo reconhecimento os fez ganhadores do Prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia de 2004.

#### UBIQUITINAÇÃO

Fenômeno resultante da reação da ubiquitina com as proteínas que não passam no controle de qualidade ou aquelas que gastaram a meia vida e precisam ser retiradas de circulação. As proteínas marcadas com ubiquitina são encaminhadas para os proteassomas mas, antes da degradação, a ubiquitina é removida para ser reutilizada. Para mais detalhes, o endereço eletrônico <http://www.medterms.com/script/main/asp?articlekey=26110> pode ser consultado.

Células com resíduos no MHC de classe I são alvo dos clones de linfócitos citotóxicos CD<sub>8</sub><sup>+</sup> (portadores do *Cluster Determination 8*). Estes linfócitos matam essas células e, como prêmio, têm direito à mitose, para expandir a sua própria população.

Os resíduos celulares, gerados em decorrência da morte das células que produziram vírus e daquelas que foram punidas com a lise pelos LT CD<sub>8</sub><sup>+</sup>, são aproveitados, como alimento, pelas células fagocitárias, destacando-se, principalmente, aquelas denominadas monócitos. Com essa grande disponibilidade de nutrientes, os monócitos (células que normalmente circulam pelo sangue), depois de tanto comer, “engordam” e com o tamanho aumentado deixam de se locomover e ficam estacionados nos tecidos, assumindo a identidade de **MACRÓFAGOS**.

#### MACRÓFAGOS

Designação histológica atribuída aos monócitos que aumentaram de tamanho e assumiram a morfologia adequada ao órgão onde estão fixados. Nos tecidos, há uma permanente renovação de macrófagos, a partir dos monócitos circulantes. Uma vez fixados, os macrófagos, embora continuem fagocitando, vivem pouco tempo e, ao entrarem em apoptose (morte celular programada), contribuem com seus despojos para a nutrição das células dos tecidos onde estiverem alocados.

Dentre os resíduos oriundos das células infectadas, alguns componentes são capturados por linfócitos B que, tal como os monócitos, engordam e aumentam de tamanho. Diferentemente dos macrófagos, quando os linfócitos B crescem, entram em mitose, fazendo expansão dos seus clones.

Dentre os despojos das células que sofreram infecção, existem os componentes que, embora sintetizados pelas células, foram codificados pelo genoma viral. Estes componentes, quando fagocitados, têm pouca chance de serem digeridos completamente no ambiente fagolisossomal, havendo uma grande probabilidade de gerar resíduos. Estes resíduos resultantes dessa digestão lisossomal são exocitados para a superfície celular associados às moléculas de MHC da classe II. Esta situação difere da digestão proteossomal, que está associada a MHC de classe I. Atente que a exocitose de resíduos só acontece quando a célula não é capaz de digeri-los completamente. Em se tratando de um sistema fechado, o interior do corpo humano ou de outros animais não pode acumular dejetos e, assim, para auxiliar os monócitos e os linfócitos B naquilo que eles não conseguiram digerir, chegam os linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup>, também chamados linfócitos auxiliares. Uma vez beneficiados com estes resíduos, os linfócitos auxiliares crescem, entram em mitose e assim expandem os seus clones. Tal como os monócitos/macrófagos, os linfócitos B, ao fazerem exocitose de resíduos associados aos MHC de classe II na superfície, também contam com o auxílio dos linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> para a remoção desses resíduos da digestão lisossomal.

Dentre a população de linfócitos B, alguns daqueles que aumentam de tamanho, ao invés de seguir o caminho da mitose, diferenciam-se em fábricas secretoras de imunoglobulinas (anticorpos), conhecidas como plasmócitos. Estes linfócitos B diferenciados secretam anticorpos durante um certo período de tempo e, depois, entram em apoptose. Seus resíduos servem de nutrientes para outras células, também contribuindo para a manutenção do estado vital do organismo.

Sempre que células entram em estado de anabolismo (obrigatório para que elas cresçam e entrem em mitose), elas secretam IFNs, haja vista que precisam da insulina, como você aprendeu na parte inicial onde foram abordadas as bases fisiológicas nas viroses.

O efeito inibidor mediado pelos IFNs secretados vai ser exercido sobre as células não-linfáticas, principalmente aquelas responsáveis pela renovação basal dos tecidos, atingidas de maneira parácrina ou endócrina. A inibição ocorre no processo de diferenciação, conforme foi abordado na Atividade 1. Você se recordou? Sem diferenciação, a renovação celular deixa de ser feita e, com isso, instala-se a escassez das células produtoras de vírus, o que leva à redução da carga viral. Sem as células competentes para manterem a virose, a consequência natural é a cura que, como você viu, foi promovida pelos mecanismos fisiológicos do indivíduo acometido. No conjunto de células não-competentes, algumas são contaminadas e, embora a infecção viral seja abortada, estas células são penalizadas com a morte mediada por linfócitos citotóxicos. O dano tecidual resultante deste processo será diretamente proporcional à carga viral que foi produzida. Desta maneira, você pode perceber que os sinais e sintomas, nos casos de viroses, aparecem quando se inicia a cura.

Chá de sabugueiro – receita da vovó recomendada para crianças que apresentavam os sinais iniciais de estarem com sarampo. O chá, diga-se, a água, era para manter o corpo hidratado, mas acreditava-se que era para “fazer o sarampo sair”. Empiricamente, a vovó sabia que os sinais tinham de aparecer para haver a cura, pois se as “pintinhas” (nome popular para o quadro de exantema) não aparecessem, era prenúncio de morte, (era o popular sarampo recolhido). Após um ou dois dias tomando o chá, havia o aparecimento do quadro exantemático, mas esse é o tempo necessário, com ou sem chá. A hidratação favorece a higidez orgânica. Água com sabor e adocicada é mais agradável ao paladar, mas o efeito só aparece nos infectados que, naturalmente, evoluem para cura.

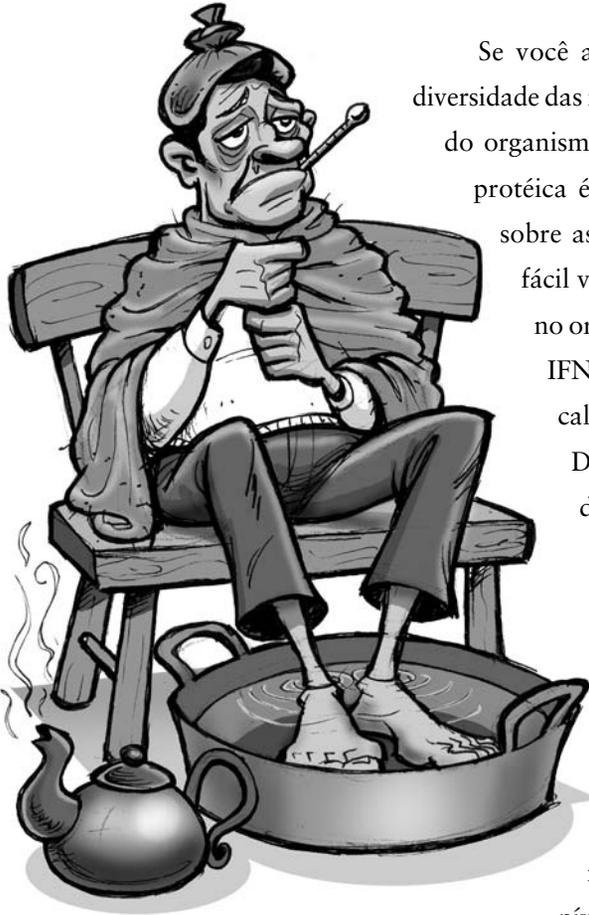


Figura 17.9: Interferose.

Se você analisar com atenção a **Figura 17.8**, vai perceber a diversidade das fontes de produção de interferons envolvidas na resposta do organismo às viroses. Portanto, o efeito de inibição na síntese protéica é resultante da sinalização mediada pelos interferons sobre as células não-linfáticas. Tendo essas informações, fica fácil você concluir quais são as conseqüências dessa situação no organismo humano, não é mesmo? É simples: o excesso de IFN no corpo provoca aquele conjunto de sintomas (febre, calafrios, dores generalizadas) característico da interferose. Dê uma espiada na **Figura 17.9** e coloque-se na situação do personagem, afinal, você já deve ter passado por várias viroses aparentes.

Vamos lembrar agora a influência das viroses sobre o equilíbrio cadenciado das funções exercidas pelas glândulas hipófise e supra-renais, visto no início da aula. Os IFNs  $\alpha$  e  $\gamma$ , produzidos como apresentado na **Figura 17.8**, ficam em excesso no sangue e, ao atuarem sobre as células da glândula hipófise, induzem-nas à redução da síntese protéica. Conseqüentemente, o nível sanguíneo dos hormônios peptídicos, particularmente o ACTH, decai. Com a falta de ACTH, as glândulas supra-renais deixam de produzir cortisol. Como o cortisol é essencial para a renovação celular e para a vitalidade do corpo, como está representado na **Figura 17.3**, as conseqüências da sua diminuição na corrente sanguínea resultam em fraqueza e falta de renovação tecidual. Indiretamente, embora esse efeito pareça prejudicial, esse fenômeno é a expressão da cura. As funções normais do corpo serão restabelecidas quando forem eliminados do organismo todos aqueles componentes que foram produzidos a partir de uma informação genética alienígena.

A participação dos linfócitos no processo da cura espontânea nas viroses é acompanhada pela resposta inflamatória que, além de prejudicar os tecidos envolvidos com a virose, seqüestram ACTH circulante, por intermédio dos seus receptores para tal, enquanto se dá a expansão populacional dos clones linfocitários participantes. Mas como o corpo é um sistema fechado, quando somem os resíduos proteassomais e lisossomais, a população linfocitária expandida deixa de receber o “fator de crescimento”. Esse estado de “desnutrição” instalado faz com que as células daquela população clonada entrem em apoptose.

Como artimanha para sobrevivência, as população de linfócitos penalizadas passam a produzir ACTH e outros hormônios peptídicos, em substituição à hipófise, que foi bloqueada em suas funções, em virtude da interferose. Reinstala-se, assim, o processo de renovação celular, com o restabelecimento da higidez, acompanhada dos anticorpos produzidos pelos plasmócitos que estiveram envolvidos no processo de cooperação celular para a limpeza do corpo.

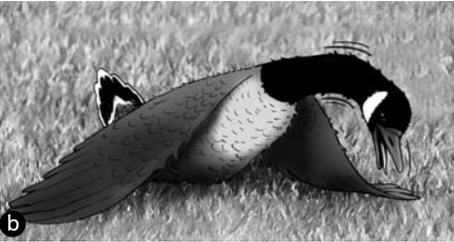
## PAPEL DAS VIROSES NA SELEÇÃO DAS ESPÉCIES NA NATUREZA

Nos animais com interferose a renovação celular, se ocorrer, é feita de maneira mais lenta. Isto faz com que naqueles tecidos onde a renovação normalmente é muito intensa, como medula óssea, vasos sanguíneos, articulações e pele, o efeito inibidor tenha maior repercussão. Dessa forma, por intermédio de um **HEMOGRAMA**, é facilmente percebida a diminuição de plaquetas, granulócitos, monócitos, acompanhada do aumento das células linfáticas.

Os outros animais também são submetidos às viroses e, por conseguinte, às interferoses. Vamos imaginar uma situação conforme ilustrado na **Figura 17.10**, que representa o ciclo migratório de aves em busca de melhor clima para nidificação. Se em algum dos locais usados para repouso essas aves se infectarem com viroses, aqueles elementos do bando que tiverem grande proporção de células competentes para fazer componentes virais, vão apresentar a interferose. Com isso ficam lerdas e desatentas e tornam-se presa fácil de seus predadores, que contribuem para a eugenia positiva da espécie em migração. Dessa forma, só chegam ao local de acasalamento aqueles resistentes (com menor proporção de células competentes). A nova geração dessas aves, pela lei mendeliana, deve ser constituída de indivíduos resistentes à virose em questão e, assim, quando retornarem ao local contaminado, vão passar incólumes à infecção.

### HEMOGRAMA

Exame que analisa os elementos figurados do sangue (elementos da série branca: leucócitos totais e específicos; elementos da série vermelha: hemácias; elementos da coagulação: plaquetas).



**Figura 17.10:** (a) Aves em migração; (b) ave com interferose, presa fácil para os predadores, não deixando descendência; (c) aves resistentes chegam ao fim da viagem e transmitem essas características de pouca competência celular à sua prole.

O efeito das viroses na seleção de espécies animais na Natureza também pode ser percebido em mamíferos marinhos. Um exemplo é a gripe em leões marinhos da Califórnia. A evolução da virose nos animais contaminados termina em morte ou em cura. Na evolução para a cura, durante o estado de interferose, muitos desses animais são predados aumentando, assim, gradualmente, após cada surto, a proporção de indivíduos resistentes no grupo.

Esse fenômeno pode ser extrapolado para as baleias. Imagine a situação de um grupo de baleias que se contamina com uma virose. Só aquelas com poucas células competentes para a produção daquele tipo de vírus sobreviverão e passarão essas características aos descendentes que, com isso, terão melhores condições para perpetuar a espécie. Dessa forma, a Natureza vai desempenhando o seu papel na eugenia positiva. Em alto mar a água é fria. Naquela baleia em que se instalar o estado de interferose, as condições físicas, para acompanhar o grupo, ficam prejudicadas. Na **Figura 17.11** você tem uma imagem de baleia saudável e a representação de uma jururu. A febre e o mal-estar geral a fazem procurar regiões de água menos fria, no caso o litoral, para descansar. Se ficasse em alto mar, seria alvo fácil dos predadores. Essa mudança de

comportamento, sob o olhar antropocentrista, faz com que a baleia seja considerada como um animal desorientado que precisa voltar para o alto mar. Porém, quando conseguem empurrá-la, ela retorna mostrando estar ali por opção. Em virtude da dessecação e da falta de alimento, as suas condições se deterioram levando-a à morte, que às vezes é apressada com a “ajuda” humana, como você pode ver na **Figura 17.12**. A baleia só teria condições de sobreviver, se fosse levada para o “hospital” (um aquário aquecido), até que, com o tempo, ela se curasse espontaneamente da virose que a acometia. Na sociedade das baleias, todos os membros do grupo seguem rigorosamente as ações do líder. Desta forma, quando é este o contaminado, verifica-se o encalhe em massa dos outros animais saudáveis.



**Figura 17.11:** À esquerda, baleia fazendo evoluções em alto mar; à direita, representação artística de uma baleia com interferose.



**Figura 17.12:** Tentando salvar uma baleia do encalhe na praia, o máximo que se consegue é mudar o local de sua morte (fotos tiradas na Fortaleza de Santa Cruz, Jurujuba-Niterói/RJ em 10/8/2004).

Na Natureza, a figura do predador faz com que não se vejam animais silvestres doentes. Embora com os seres humanos e os animais domésticos as viroses sintomáticas também evoluam para a morte ou para a cura, no ambiente doméstico, o efeito predador é desprezível.

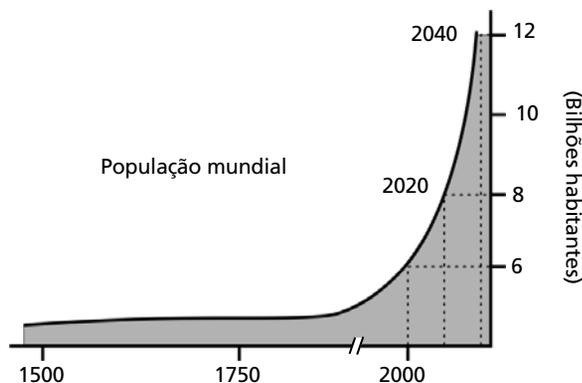
No ambiente doméstico, os doentes com interferose têm o tempo suficiente para se recuperar. Uma vez curados, podem transferir essa característica genética para a nova geração, ampliando assim o número de indivíduos, na população, com capacidade para desenvolver virose aparente. As conseqüências desse fato são evidenciadas ao longo das múltiplas gerações, onde passam a prevalecer os indivíduos com capacidade de desenvolverem viroses. Esta característica é notada através dos dados estatísticos da OMS, referindo que  $\frac{2}{3}$  de todas as doenças infecciosas que acometem a humanidade são viroses. Para você gravar esse índice, imagine uma representação de um círculo dividido em três partes. Se o círculo for a representação do total de doenças infecciosas que acometem os seres humanos, duas das três partes correspondem às viroses.

Sem predador, a espécie humana pode proliferar e, assim, contribuir para o aumento da população mundial. De acordo com as previsões, o maior problema da humanidade no terceiro milênio será a superpopulação e, tem gente que capricha mesmo, como você pode ver na **Figura 17.13**.



**Figura 17.13:** Natalidade sem seleção por predador.

Na **Figura 17.14** está representado o gráfico da evolução do crescimento populacional da humanidade, com a projeção até o ano 2040.



**Figura 17.14:** Aumento populacional humano ao longo dos anos, com a projeção até 2040.

Nesse ritmo de crescimento populacional, é de se esperar que as viroses que comumente acometem os seres humanos fiquem cada vez mais em evidência. Você já viu se o noticiário da semana fez referência a alguma virose? Mas, atente para o fato de que as múltiplas viroses que acometem os seres humanos, ou seus animais domésticos, atuam como elementos de seleção populacional na Natureza. Só desenvolvem virose, com sintomas, os elementos da população que têm esta competência e o dano da infecção será proporcional ao número de células competentes presentes no corpo do indivíduo acometido. Se essa barreira não for suficiente para conter a expansão populacional humana, o número de indivíduos no planeta será limitado pela disponibilidade de água potável para a sobrevivência. E, para se orgulhar de ser brasileiro, saiba que o Brasil é um país privilegiado no que diz respeito à quantidade de água doce. Só a Amazônia detém 85% da reserva fluvial do mundo, o que assegura ao Brasil uma posição de destaque como país do futuro, cabendo às novas gerações a necessidade de zelar por esse patrimônio nacional.

Mas, quando a água disponível acabar, novos mundos deverão ser povoados, para se começar uma nova era, assegurando a continuidade da existência humana. E onde houver células vivas, os vírus aí estarão sendo produzidos e as viroses continuarão a selecionar os indivíduos competentes a desenvolvê-las.



### ATIVIDADE

4. As dez frases escritas a seguir foram adaptadas do conteúdo do livro: *Guia de batalha contra os germes*, escrito por Wayne Biddle, publicado no Brasil pela editora Record em 1998.

Sua tarefa é analisá-las quanto à pertinência como frase que relaciona o fenômeno de seleção exercido pelas viroses sobre a população humana.

- Relatos históricos descrevem que os escravos africanos eram relativamente imunes à febre amarela, à malária e a outras doenças que dizimavam europeus e nativos americanos (p. 89).
- Hoje em dia, a febre amarela ocorre na maior parte das vezes em áreas subdesenvolvidas mas a doença se apresenta, freqüentemente, de forma branda a ponto de não ser percebida (p. 91).
- Os surtos de hepatite A são mais comuns em creches, associados à água não tratada. As crianças infectadas raramente apresentam icterícia (p. 104).
- O curso natural da evolução das infecções com HIV aponta para uma menor virulência numa determinada população (p. 114).
- 10 a 50% das mulheres saudáveis são portadoras de papilomavírus (p. 131).
- A maior proporção dos casos de infecção por vírus da poliomielite acontece de forma inaparente, sendo essa proporção de 99 para cada uma pessoa com sintomas ativos da doença (p. 140).
- Nos países tropicais pobres, a maioria das infecções por vírus da poliomielite é assintomática (p. 141).
- Há mil anos o sarampo era uma doença tão freqüente em crianças que o primeiro médico a relatá-la, o persa Abu Bakr Muhammed ibn Zakariya, mais conhecido como al - Rhazes de Bagdá (850 – 923), a encarava não como uma doença infecciosa, mas como um episódio natural da infância, tal qual a queda dos dentes (p.153).
- As crianças acometidas por catapora raramente apresentam complicações e a taxa de mortalidade é de 100 para cada 3.700.000 (p. 178).
- No início do século XVIII, durante uma epidemia de varíola, na cidade de Boston, nos EUA, seis mil dos habitantes contraíram a doença e, destes, 900 morreram (p. 182).

---

---

---

---

**RESPOSTA COMENTADA**

*Você notou a conotação direta ou indireta do efeito das viroses como elemento de seleção? Em todos os relatos você pode perceber a referência à proporção de indivíduos que resistem à infecção ou a desenvolvem de forma assintomática.*

*As descrições mencionam a situação a que estavam submetidos os seres humanos, independente da época e da região geográfica. Considerando os fenômenos como um processo de seleção, é possível prever que, geração após geração, a população humana vinha sendo selecionada para o predomínio de indivíduos resistentes, o que é uma tendência natural.*

**CONCLUSÃO**

As viroses são fenômenos exclusivos dos seres vivos e, portanto, podem ser consideradas como um dos fatores envolvidos na seleção das espécies na Natureza. Os mecanismos fisiológicos responsáveis pela cura nas viroses atuam de maneira interligada para assegurar a hegemonia do corpo. No processo de seleção, somente os aptos sobrevivem e essa regra é aplicada a todos os seres vivos. A instalação das viroses nos animais depende de células competentes para a produção de vírus e a proporção destas em relação às células não-competentes representa o fator biológico que define a expressão da virose como aparente ou inaparente. Nas aparentes, os sinais e sintomas são resultantes da disfunção celular nos órgãos ou tecidos acometidos, mediada por morte das células produtoras de virions e daquelas que, se infectadas, abortam a produção dos componentes virais, por serem incompetentes. As células que se aproveitam dos resíduos celulares, resultantes da infecção viral, os utilizam como nutrientes para crescimento. Este crescimento é dependente de insulina e, para a obterem, essas células, egoisticamente, sinalizam com interferons que, atuando sobre outras células não-linfóides, induzem o bloqueio da síntese protéica nestas, representado sob a forma de catabolismo e disfunção tecidual. As células em catabolismo são, naturalmente, resistentes à infecção viral. Dessa maneira, é evitada a expansão da virose, mostrando, assim, que o organismo foi o responsável pela própria cura. Portanto, o que a

princípio parece ser prejudicial ao corpo, em verdade é o que propicia a sobrevivência. Como você já foi acometido por algumas viroses e continua vivo, isso mostra que você está adaptado às circunstâncias vigentes em seu ambiente. Por enquanto!

## ATIVIDADE FINAL

Vamos ver se você já vivenciou a história de uma situação de virose conforme descrita a seguir: no último verão, o irmão de Joana levou-a para passar um fim de semana no sítio de um casal amigo. Foi um programa muito agradável, mas o casal não se preocupava em manter o ambiente livre de latas e garrafas vazias e de outros recipientes que serviam como depósito de água e, posteriormente, como criadouros de mosquitos. No quintal, uma árvore centenária fazia sombra por todo o ambiente, onde havia um caramanchão com rede que ela escolheu como local para descansar depois do almoço, pois além de sombreado era bem fresco. O único senão eram uns mosquitos pretos que tinham manchas brancas nas articulações das patas e escamas na parte superior do tórax, formando um desenho semelhante a uma lira. Muito ariscos e de vôo silencioso, eles fizeram uma festa no corpo da jovem, que voltou do sítio, no domingo, com as marcas das picadas dos mosquitos. Na terça-feira, Joana começou a sentir um mal-estar geral, com febre. Na quarta-feira, ela notou, no corpo e membros, pequenas manchas rosadas e sentia intenso cansaço. Ela referiu ao médico que os sintomas se agravavam no final da tarde, com a febre aumentando, muita dor de cabeça e dor no fundo dos olhos, intensa coceira, falta de concentração, prostração e dor no corpo. Feito um exame de sangue, foi detectada uma diminuição de granulócitos (leucopenia) e de plaquetas (plaquetopenia), com o tempo de coagulação aumentado. No sábado, após uma intensa coceira no corpo, o quadro começou a regredir e na segunda-feira ela já estava em condições de trabalhar, embora sentisse uma sensação de fraqueza muscular, que com o passar dos dias desapareceu. Você já passou por situação semelhante ou conhece alguém que já passou por isso? Seu desafio é justificar a possibilidade de se tratar de um caso de dengue e explicar os sinais e sintomas, em função das alterações fisiológicas resultantes da instalação da virose no corpo de Joana.

---

---

---

**RESPOSTA COMENTADA**

*Latas vazias, água parada, tudo armado para fazer dos mosquitos os bichinhos de estimação dos sitiantes. Mosquitos de cor escura e vôo silencioso, com manchas brancas nas patas e o desenho de uma lira no tórax, que gostam da sombra: é claro que você se lembrou de que estas características são dos Aedes aegypti, os mosquitos vetores da dengue, pois isto todo dia sai na mídia. Os sinais e sintomas apresentados também eram compatíveis com uma interferose, ou seja, inibição de síntese protéica, com conseqüente lentidão na renovação celular e tecidual do organismo, cujo desgaste normal não é compensado. Com isso você justificou as dores do corpo. A febre e o mal-estar geral mostram um organismo sob o efeito da interferose. A coceira é sinal de linfócitos citotóxicos em grande atividade, atacando células que estão excitando resíduos via MHC de classe I. Monócitos estão recolhendo os despojos das células mortas. Leucopenia e plaquetopenia mostram que a medula óssea não está fazendo a reposição adequada dos elementos sangüíneos. Isso é uma das conseqüências do nível elevado de interferon no organismo, que também se reflete na diminuição do teor de cortisol circulante. Com pouco cortisol, o tempo do ritmo circadiano é encurtado e, com isso, o indivíduo fica cansado e com sono mais cedo, pois a disfunção fica mais evidenciada no final da tarde. Com a renovação tecidual bloqueada, decai o aparecimento de novas células competentes e, sem elas, não há produção de novos virions. Sem novas células infectadas, o nível de interferons, volta ao normal e as funções orgânicas são restabelecidas, uma vez que o indivíduo se curou espontaneamente. E, assim, termina o martírio de uma dengue. Aleluia!!!*

**RESUMO**

O corpo humano e de outros mamíferos e aves, sob condições fisiológicas, mantém em equilíbrio os hormônios necessários às suas condições vitais, de acordo com o ritmo circadiano (relógio biológico). No que tange à disponibilidade energética e renovação celular, esses efeitos são regidos respectivamente pelos hormônios insulina e cortisol. Este último é controlado por *feedback* entre as glândulas supra-renais, a hipófise e a população linfocitária. Nos animais infectados por viroses, a produção de vírus suscita um estado de anabolismo, situação esta em que as células precisam de glicose e, conseqüentemente, de insulina, cuja concentração sangüínea é limitada. Face à necessidade de insulina, as células em anabolismo secretam seus interferons (IFNs), cuja ação pode ser exercida de maneira parácrina (tipo beta) ou endócrina (tipos alfa e gama). Atuando como indutor do estado

de bloqueio da síntese protéica, o efeito dos IFNs não só retarda a diferenciação celular, como também impossibilita as células de renovarem os seus receptores de membrana. A disfunção celular decorrente desse estado de interferose é estendida aos tecidos e órgãos, gerando os sinais e sintomas de febre, dores de cabeça e musculares, acompanhados da redução de elementos figurados do sangue (granulócitos, monócitos e plaquetas). O contágio das viroses pode ocorrer de forma horizontal, vertical ou transversal. Nos indivíduos as viroses podem ser assintomáticas ou sintomáticas. Nestas últimas a intensidade dos sintomas é proporcional à quantidade de células competentes responsáveis pela produção de virions. Quando são infectadas células cujo controle de qualidade reprova os componentes virais sintetizados, os produtos da degradação proteossomal são excitados e expostos associados a MHC de classe I, situação esta que suscita a proliferação dos linfócitos T CD<sub>8</sub>+ que matam a célula expositora. Os despojos das células que foram infectadas (competentes e não-competentes) são recolhidos por monócitos que, fagocitando-os como alimento, crescem até atingir o estágio de macrófago. Durante a digestão, estas células podem excitar resíduos da ação lisossomal, expondo-os associados a MHC de classe II. Estes resíduos ativam a proliferação de linfócitos T CD<sub>4</sub>+ e de linfócitos B. Dentre estes últimos, alguns se diferenciam em plasmócitos para produzirem anticorpos reativos para os componentes virais. A proliferação dos linfócitos T e B é acompanhada da produção de IFNs gama e alfa, respectivamente. A interferose nos animais gera um estado de desatenção e lerdeza (ficam jururus). No ambiente selvagem, essa situação beneficia os predadores. Com isso, nas diversas espécies, são selecionados os indivíduos que desenvolvem a infecção assintomaticamente. Na espécie humana, a solidariedade para com os doentes facilita a cura e contribui para o crescimento populacional, que terá como fator limitante a disponibilidade de água.

### INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

Na próxima aula, serão abordados aspectos da epidemiologia, da prevenção e do controle das doenças infecciosas que acometem os seres humanos, dando-se ênfase aos fenômenos que regem a interação com os micróbios e com os vírus. Nessa última aula, você vai descobrir o mínimo múltiplo comum das ciências microbianas.

# Epidemiologia: prevenção e controle das infecções

# AULA 18

## Meta da aula

Apresentar o papel seletivo das infecções microbianas e virais sobre a espécie humana.

## objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- interpretar gráficos que mostram resultados estatísticos da taxa de mortalidade de uma determinada doença;
- discutir a erradicação de uma doença humana contagiosa (varíola) e avaliar a validade da proibição do uso da vacina anti-variólica;
- descrever as atitudes que devem ser tomadas pela população a fim de evitar o contágio por viroses de transmissão respiratória, fecal-oral ou veiculadas por vetores;
- correlacionar a versatilidade metabólica das células de indivíduos com a probabilidade de eles desenvolverem infecções microbianas ou virais e apresentarem resposta imune, com produção de anticorpos reativos para os agentes infecciosos.

## Pré-requisitos

Para ter um bom desempenho no aprendizado, você deve rever na Aula 1 os tipos e quantidades de células que compõem o corpo humano; da Aula 4 você deve se lembrar da parede celular presente nos micróbios e deve relembrar a curva de crescimento celular apresentada na Aula 6. Reveja a forma como as bactérias fazem a digestão protéica, extracelularmente, comprovada na Aula 8. As Aulas 15,16 e 17 são essenciais para o entendimento desta aula e é aconselhável que você faça uma revisão das mesmas.

## INTRODUÇÃO

A seleção natural na espécie humana vem sendo exercida, desde o seu surgimento, há cerca de 100 mil anos, pelas doenças infecciosas que atuam como barreiras seletivas. Dessa forma, essa seleção estabelece que somente os aptos sobrevivam. A história da humanidade é repleta de relatos, registrados em documentos, esculturas e pinturas, que nos contam parte desse desenvolvimento. Uma observação mais atenta desses registros históricos, artísticos ou não, nos fornece uma visão das heranças genética e social das populações humanas. Essas heranças, durante séculos, vêm superando os elementos microbianos garantindo à humanidade a capacidade de sobreviver às doenças infecciosas.

Ao longo das gerações, a espécie humana vem procurando compreender e diagnosticar as doenças, na tentativa de se prevenir delas ou, ainda, de buscar a cura para os que por elas são acometidos. Assim, das mais diferentes maneiras, o homem foi pesquisando, transmitindo e ampliando esses conhecimentos através dos tempos. Parafraçando Confúcio (551–479 a.C.), “se quiseres prever o futuro, estuda o passado” pois, conhecendo a história fica mais fácil entender vários aspectos da ciência, em particular, da Microbiologia. Além do mais, a base de qualquer conhecimento científico é reforçada quando se dispõe de percepções antagônicas para, a partir delas, se construir a própria conclusão.

Nesta aula, você vai estudar o papel dos micróbios e dos vírus em algumas doenças que acometem os seres humanos e verá que, muitas vezes, ao invés de vilões, os agentes infecciosos são meras desculpas usadas pela população para encobrir os hábitos que adotam e a falta de condições sanitárias do ambiente em que vivem.

Ao aprender alguns dos fatores que regem a interação dos micróbios ou dos vírus com os seres humanos, você vai compreender a influência das doenças infecciosas na **EUGENIA** humana, e descobrir o mínimo múltiplo comum das ciências microbianas.

### EUGENIA

Processo baseado na seleção de caracteres genéticos que busca promover o aperfeiçoamento nas espécies.

### TRIQUINOSE

Parasitose, decorrente da infestação pelos nematelmintos *Trichinella spiralis*, que é transmitida aos seres humanos através da ingestão de carne de porco crua.

## BREVE HISTÓRICO SOBRE AS DOENÇAS INFECCIOSAS

Durante milhares de anos, as doenças foram consideradas como punições divinas e, os sacerdotes, por meio de rituais, tentavam aplacar a fúria dos deuses. Os ensinamentos sagrados ditavam regras de comportamento (coletivo ou individual), de alimentação e de obrigações religiosas que deviam ser cumpridas pela sociedade, a fim de não despertar a ira dos deuses. Podemos citar, como exemplo, a tradição judaica e sua proibição à ingestão de carne de porco. O cumprimento desta abstinência fez desaparecer a doença **TRIQUINOSE** entre os judeus.

Por volta do ano 600 a.C., os filósofos gregos naturalistas começaram a questionar esta submissão aos deuses, pois consideravam as doenças como fenômenos naturais e, por isso, estes deveriam ser explicados por meio da observação e da lógica. Hipócrates (460-370 a.C), considerado o pai da Medicina moderna, aos quarenta anos de idade, ensinava que as doenças eram conseqüências do desequilíbrio dos “humores” do corpo. Tais humores eram o sangue, o muco, a bile amarela (de fígado) e a bile negra (do baço). Estes, por sua vez, estavam associados aos quatro elementos da Natureza (água, terra, ar e fogo). O uso de sangrias, vomitórios e purgativos tinha por finalidade restabelecer o equilíbrio entre os humores, pois retiravam aquele que estivesse em excesso.

Os médicos da Grécia antiga, bem como seus sucessores do Oriente e de toda a Europa, utilizavam, como medicamentos, apenas produtos de origem animal ou vegetal. Foi somente no início do século XVI que, por meio das idéias de Paracelsus (1493-1541), teve início a utilização de elementos minerais como o mercúrio e o antimônio para o tratamento de doenças. Ele acreditava que, apesar de serem tóxicos, tais elementos possuíam “forças astrais” que contribuía para a cura. Entretanto, para o paciente, muitas vezes, a busca pela cura era pior que a doença, pois resultava em morte imediata, devido aos métodos adotados no tratamento.

Como forma de prevenção, medidas sanitárias simples e eficientes podem ser encontradas na história da humanidade. Desde o século IV a.C. a cidade de Roma eliminava seu esgoto através de uma canalização denominada “cloaca máxima”. Nessa época, apesar dos esforços, a humanidade não se livrava das doenças contagiosas. Por isso, passou a atribuí-las à ação dos “maus espíritos” e dos **MIASMAS**.

Por volta do ano 1000, o médico árabe Avicena (980-1037) aventou a hipótese de que, em certas doenças contagiosas, substâncias nocivas, excretadas pelos doentes, penetravam no solo, contaminavam a água de beber, e assim, faziam novos doentes. Infelizmente, esta e outras visões, bastante óbvias para os dias de hoje, não eram levadas a sério.

Já no século XVI as idéias sanitaristas para prevenção de doenças contagiosas começaram a ser estabelecidas nos países nórdicos, porém só foram generalizadas por toda a Europa no século XIX. Em 1842, na Inglaterra, Edwin Chadwick (1800-1890), com seu trabalho sobre as condições sanitárias dos trabalhadores, estabeleceu uma relação direta entre a falta de higiene e as doenças.

#### **MIASMAS**

Emanações exaladas pelos corpos em decomposição ou pelas águas estagnadas, às quais, antes da descoberta dos micróbios, atribuíam-se a contaminação das doenças infecciosas.

**CORTIÇO**

Casa onde habitavam várias famílias da população pobre. No Rio de Janeiro, o cortiço mais famoso ficava na Rua Barão de São Félix 154, com o nome de Cabeça-de-porco.

Em 1847, o Parlamento Inglês reconheceu as vantagens das ações sanitárias e resolveu acabar com os **CORTIÇOS** de Londres. Para tanto, transferiu a população pobre para casas populares dotadas de instalações sanitárias adequadas, o que diminuiu, substancialmente, a ocorrência de doenças infecciosas nessas comunidades. A partir de 1854, Florence Nightingale (1820-1910), na cidade de Escutari, na Turquia, promoveu a melhoria das condições sanitárias dos hospitais, exigindo que fosse feita limpeza do chão e das paredes, assim como, cuidados com o esgoto, uso de roupas e lençóis sempre limpos, e eliminação de ratos e piolhos do ambiente hospitalar. Essas medidas resultaram em uma considerável diminuição na taxa de mortalidade entre os feridos da Guerra pela Criméia.

A Guerra pela Criméia (atual sul da Ucrânia) que aconteceu de 1853 a 1856, envolveu de um lado a Rússia e, de outro, uma coalizão integrada por Reino Unido, França, Itália, Turquia e Áustria, em razão das pretensões expansionistas russas.

A relação entre doenças contagiosas e condições higiênicas nos hospitais começou a ser de fato estabelecida a partir de 1865, quando o médico inglês Joseph Lister (1827-1912), fundamentado na teoria dos germes de Pasteur, instituiu a prática de desinfecção nos ambientes cirúrgicos, por meio da utilização do fenol como anti-séptico. Este procedimento teve como consequência a diminuição do número de mortes resultantes das infecções pós-cirúrgicas. William Thompson Sedgwick (1855-1921), em 1880, estabeleceu o tratamento de esgotos com cloro, como agente sanitário e, em 1888, Theobald Smith (1859-1934) foi o primeiro a convencer os cientistas de que insetos podiam ser portadores de germes causadores de enfermidades, ao comprovar que a febre do Texas, que dizimava rebanhos bovinos na Carolina do Norte, era transmitida por carrapatos.

Em 1900, o major médico do Exército americano, Walter Reed (1851-1902) e seus assistentes demonstraram que os vírus da febre amarela, no ambiente urbano, eram transmitidos, aos seres humanos, pela picada dos mosquitos fêmeas da espécie *Aedes aegypti*.

No Brasil, em 1903, sob a orientação do Dr. Oswaldo Cruz, o Prefeito Pereira Passos repetiu, na cidade do Rio de Janeiro, o que fora feito em Londres, em 1847, acrescentado de medidas sanitaristas. Depois da reforma urbana e das ações sanitárias, a cidade ficou livre da febre amarela e da peste bubônica.

A batalha contra os agentes infecciosos ainda parece estar longe de ser vencida, porém, os exemplos das gerações que nos antecederam, levam-nos a estabelecer a idéia de que, mais importante do que curar os doentes, é prevenir que eles adoeçam e, para isso, a manutenção de padrões sanitários é a forma mais econômica de assegurar o bem-estar da população.

Ao longo de várias gerações, as comunidades humanas têm demonstrado preocupação com as pessoas que morrem acometidas de doenças contagiosas (microbianas ou virais), principalmente, quando se defrontam com situações epidêmicas. Nestes casos, o grande desafio é saber o que diferencia os indivíduos susceptíveis dos resistentes.

Em relação às infecções por agentes microbianos, sejam elas relacionadas com protozoários, fungos, bactérias, **ESTREPTOMICETOS**, **MICOPLASMAS**, **RIQUÉTSIAS** ou **CLAMÍDIAS**, a possibilidade de evoluir ou não para doença, depende do indivíduo contaminado. A espécie humana convive com os micróbios desde que surgiu no planeta. Enquanto não se suspeitava que eles existissem, geração após geração, a humanidade foi submetida ao processo de seleção natural que, de modo irredutível, privilegia somente os indivíduos aptos à sobrevivência.

## AS BASES MOLECULARES DA INTERAÇÃO DAS CÉLULAS HUMANAS COM SEUS MICRÓBIOS

Enquanto está vivo, o ser humano é uma “máquina de devorar micróbios”, haja vista que o corpo de um adulto é formado, em média, por  $10^{13}$  células descendentes da célula-ovo e por  $10^{14}$  células microbianas, como você aprendeu na Aula 1. Das células microbianas, a maioria é formada por bactérias e, aproximadamente, 90% destas são anaeróbicas. Na **Tabela 18.1** você observa a relação entre bactérias aeróbicas e anaeróbicas com as quais o corpo humano convive.

### ESTREPTOMICETOS

Designação comum dada às bactérias do gênero *Streptomyces*, imóveis, aeróbicas e Gram-positivas, que crescem sob a forma de micélio ramificado. Incluem formas que vivem no solo. São notáveis pela produção de antibióticos, como a estreptomina e a tetraciclina.

### MICOPLASMAS

Bactérias diminutas do gênero *Mycoplasma*. São Gram-negativas, imóveis, e se caracterizam como sendo o único tipo de células procarióticas desprovido de parede celular (veja a Aula 4).

### RIQUÉTSIAS

Bactérias do gênero *Rickettsia* são agentes de certas doenças infecciosas, como o tifo exantemático. Para se multiplicar, precisam estar no interior de células eucarióticas. Por isso, são ditas parasitas intracelulares obrigatórias.

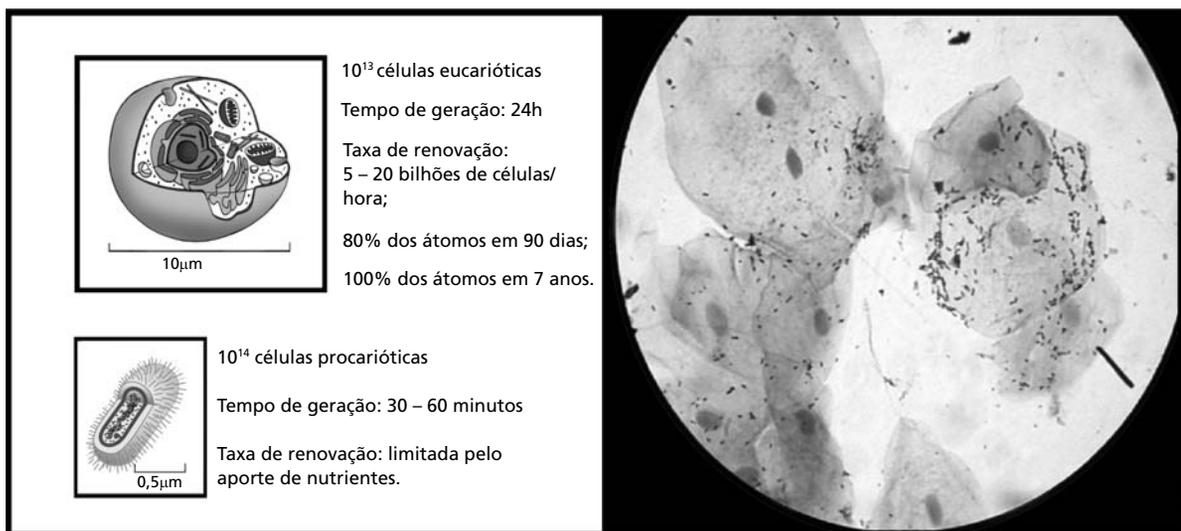
### CLAMÍDIAS

Bactérias cocóides, imóveis, que se desenvolvem somente no ambiente intracelular eucariótico, incluídas no gênero *Chlamydia*. Estão associadas a uma grande variedade de doenças em humanos como conjuntivite, tracoma e infecções urogenitais. Às infecções por clamídias, também são atribuídas doenças cardíacas crônicas. Uma espécie desse gênero, *C. psittaci*, é relacionada com infecções de aves, eventualmente transmitidas para os seres humanos.

**Tabela 18.1:** Distribuição da microbiota aeróbica e anaeróbica nas diversas cavidades do corpo

Microbiota Humana		
	Número total de bactérias	Relação Anaeróbios: Aeróbios
	por/mL ou por/g	
<b>Trato respiratório superior</b>		
lavado nasal	$10^3-10^4$	3-5:1
saliva	$10^6-10^9$	1:1
superfície dentária	$10^{10}-10^{11}$	1:1
sulco gengival	$10^{11}-10^{12}$	1000:1
<b>Trato gastrointestinal</b>		
estômago	$10^2-10^5$	1:1
intestino delgado	$10^2-10^4$	1:1
íleo	$10^4-10^7$	1:1
cólon	$10^{11}-10^{12}$	1000:1
<b>trato genital feminino</b>		
endocérvice	$10^8-10^9$	3-5:1
vagina	$10^8-10^9$	3-5:1

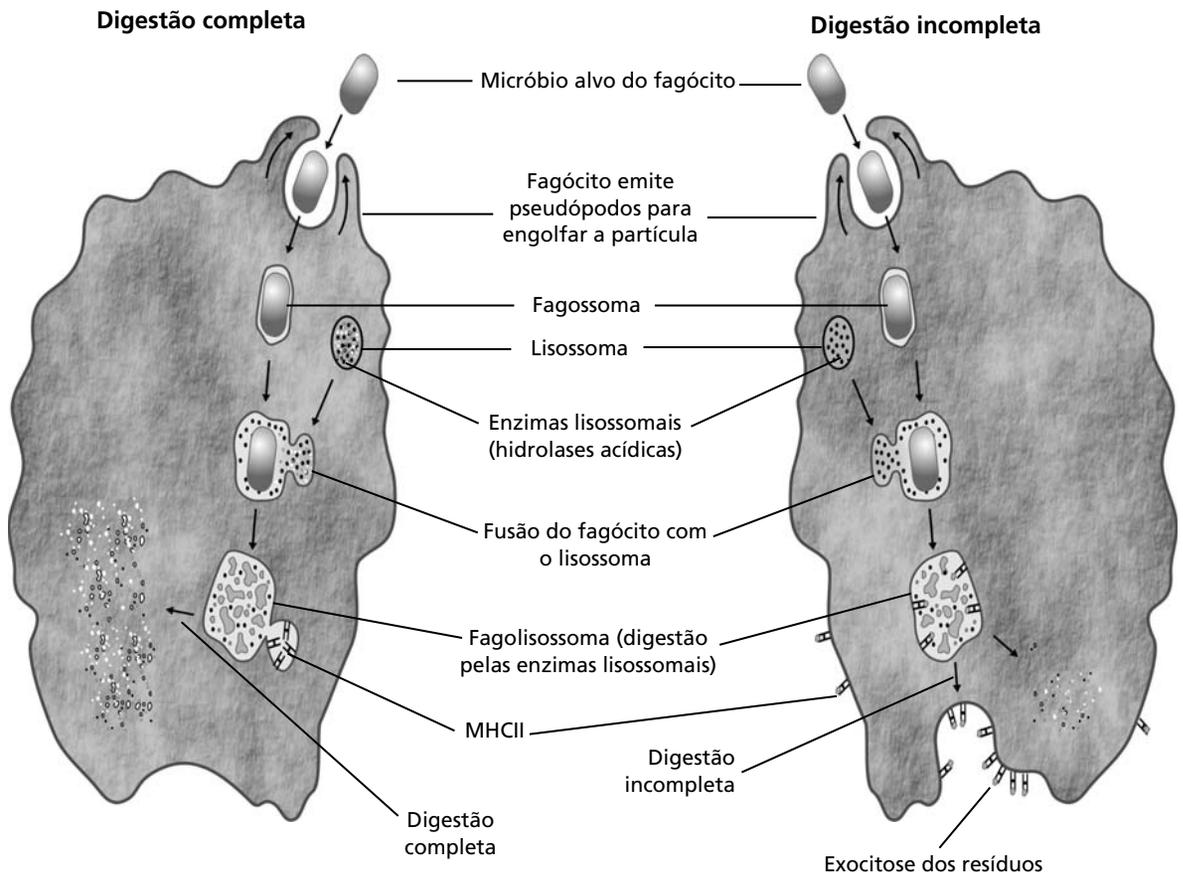
Em algumas cavidades do corpo, essa relação pode ser de  $\frac{1}{1000}$ . As bactérias têm, em média, um tempo de geração que varia entre 30 e 60 minutos, enquanto as células não-microbianas levam, em média, 24 horas para completarem o ciclo mitótico, como você pode ver na **Figura 18.1**.



**Figura 18.1:** À esquerda: composição celular do corpo humano, quanto à proporção, ao tempo de geração e à taxa de renovação. À direita: imagem de esfregaço de sulco gengival, corado pelo método de Gram, conforme executado na Aula 5. Note que as bactérias estão aderidas às células epiteliais.

Qualquer célula, para crescer e se multiplicar, precisa de alimentos. No caso das bactérias, em razão da parede celular rígida, a digestão dos substratos é feita no ambiente externo, ou seja, elas precisam, primeiro, hidrolisar os produtos do meio exterior para, depois, poderem absorver os nutrientes. Para isto, se estão vivas, estão continuamente secretando as proteases, lipases, glicosilases e DNases do seu repertório, conforme foi explicado na Aula 8.

As células fagocitárias do corpo humano fazem a digestão do material que fagocitam por meio de suas enzimas lisossomais, conforme representado na Figura 18.2.



**Figura 18.2:** Representação esquemática do modelo de fagocitose e digestão por enzimas lisossomais, do material contido no fagossoma, e exocitose dos resíduos.

Se na Natureza a regra básica é matar ou morrer, é no interior do fagolisossoma que essa batalha é definida. Se, por um lado, o micróbio secreta suas enzimas para se aproveitar dos constituintes do fagossoma, por outro, o fagócito emprega as enzimas do seu conteúdo lisossomal. Trata-se, portanto, de uma briga molecular entre enzimas! Tal qual uma luta entre espadachins, tem mais chance de ganhar aquele que tiver um repertório enzimático proteolítico mais amplo. Dessa forma, os seres humanos convivem com os elementos da microbiota, sempre levando a melhor. Quando se trata de um micróbio cujas proteases superam as do lisossoma, esse tipo de micróbio passa a dispor dos nutrientes para se multiplicar e, assim, se não for detido, vai digerir, progressivamente, outras células, tecidos e órgãos. Esta última condição caracteriza o início do processo infeccioso.

O ser humano começa sua interação com os micróbios ao nascer. Inicialmente com os micróbios da mãe e, progressivamente, com os do ambiente e das outras pessoas com as quais conviverá. Conviver com os micróbios significa devorá-los. Para tanto, as enzimas lisossomais do organismo devem degradar os componentes microbianos. Isso está diretamente relacionado à complexidade dos componentes de superfície das células somáticas: dependendo do grupo sanguíneo da criança, sua possibilidade de digerir componentes bacterianos é maior ou menor.

De acordo com os carboidratos da superfície das células de uma pessoa, seu tipo sanguíneo é classificado nos grupos “0”, “A”, “B” e “AB”, cuja herança obedece às regras mendelianas. No processo natural de renovação dos tecidos, essas pessoas fazem síntese e degradação completa desses auto-constituintes glicídicos. Os produtos ingeridos na alimentação, quer sejam micróbios, plantas ou derivados animais, também têm constituintes glicídicos semelhantes, associados ou não às proteínas (glicoproteínas). Dessa forma, os indivíduos que detêm o repertório enzimático para síntese e degradação do tipo mais complexo desses carboidratos fazem a digestão da glicoproteína, aproveitando completamente o conteúdo de aminoácidos e glicídios. Aqueles cujo repertório enzimático é menos complexo são incapazes de digerir completamente, portanto, após a digestão, deixam sobrar resíduos (digestão lisossomal incompleta) que são excitados, associados aos MHC de classe II.



Tabela 18.2: Características genótípicas, proteômicas e sorológicas dos grupos sanguíneos ABO.

Sistema ABO dos grupos sanguíneos				
Tipo sanguíneo	genótipos	Repertório enzimático para síntese e degradação	Componentes glicídicos presentes na superfície de todas as células e hemácias	Anticorpos produzidos
"O"	II	"H"	H	Anti-A, Anti-B
"A"	AA, Ai	"H", "A"	A, H	Anti-B
"B"	BB, Bi	"H", "B"	B, H	Anti-A
"AB"	AB	"H", "A", "B"	A, B, H	Nenhum

A presença de anticorpos no soro de um indivíduo está diretamente relacionada com a amplitude do seu repertório enzimático. Por isso, indivíduos “AB”, possuidores dos genes para a expressão das vias metabólicas de síntese e degradação dos componentes A, B e H, ao fazerem a digestão dos mesmos, não deixam sobrar resíduos para as células do sistema imune.

Ao contrário, os indivíduos do grupo sanguíneo do tipo “O”, cuja digestão lisossomal degrada apenas o componente H, ao receberem os componentes “A” e “B” na dieta os excitam, suscitando, assim, a resposta imune com produção de anticorpos. Em resumo: os componentes que as células de um indivíduo sabem fazer, também os sabem desmanchar. Dessa forma, pode-se concluir que, todo o material expresso a partir do genoma celular do indivíduo, quando digerido para renovação, será completamente degradado. Quando os produtos a serem degradados forem codificados por genomas **ADVENTÍCIOS**, a chance de essa digestão se fazer de forma completa será diretamente proporcional à amplitude do repertório enzimático das células do indivíduo. Se houver sobras de resíduos, estes serão aproveitados pelos linfócitos que os coletarem. Disposto desse fator de crescimento, será possível a expansão clonal dessas células.

Considerando que o repertório enzimático do indivíduo que lhe dá vantagem sobre o dos micróbios é definido no momento da fecundação, a partir desse evento a multiplicação do zigoto gera um indivíduo de células geneticamente clonadas, porém bioquimicamente diferenciadas nos tecidos. A renovação destes tecidos requer a remoção das células que atingem o estado de **APOPTOSE**. Essa tarefa cabe aos monócitos, que são as células mais versáteis do corpo, pois dispõem do repertório enzimático

**ADVENTÍCIO**

O que vem de fora, advéncio, alheio, alienígena, forasteiro.

**APOPTOSE**

Morte celular programada.

que os habilita a proceder à digestão lisossomal de qualquer resíduo celular contendo elementos expressos a partir do genoma das populações celulares dos indivíduos.

Essa versatilidade metabólica dos monócitos, também encontrada nas **CÉLULAS DENDRÍTICAS**, dá ao indivíduo a possibilidade de manter a íntima associação com a microbiota, assim como protegê-lo de infecções por agentes microbianos que detenham versatilidade enzimática inferior à dele.

Essas características são atributos genéticos passados de geração para geração. Dessa forma, pais que possuem repertório enzimático capaz de debelar infecções por **MICOBACTÉRIAS** de origem vacinal, **VACINA BCG**, passam essa característica, de forma mendeliana, para seus filhos e, assim, quando essas crianças são inoculadas com BCG, demonstram essa herança ao se curar espontaneamente da infecção vacinal.

O inóculo de BCG consiste de  $10^6$  destes bacilos vivos, que se espera sejam mortos e degradados quando forem fagocitados. Na maioria das vezes, os micróbios perdem. Porém, o tempo desse embate pode ser rápido ou demorado e a consequência dessa demora é a marca representativa do confronto que as pessoas exibem. Há crianças que evoluem sem marca, ou seja, são muito versáteis quanto à digestão lisossomal. Com isto, livram-se da infecção sem danos teciduais.

Na **Figura 18.4** você vê algumas marcas resultantes do processo de vacinação com BCG, em pessoas que demonstraram possuir as características genéticas do repertório enzimático que lhes confere a resistência. Embora resistam, levam mais tempo para se livrarem das micobactérias. O tempo que demora para a cura será diretamente proporcional à extensão da lesão. Por isso, há os que têm marcas pequenas e outros com marcas maiores, que variam em tamanho, desde 2mm até 3cm.

Há ainda aqueles nos quais a agressão tecidual é tão extensa que precisam de tratamento médico para se livrar da infecção vacinal.

#### **CÉLULAS DENDRÍTICAS**

Células do Sistema Monocítico Fagocitário que, como os macrófagos, exercem funções fagocíticas.

#### **MICOBACTÉRIAS**

Bactérias, em forma de bastonetes retos ou encurvados, imóveis. São aeróbicas, do gênero *Mycobacterium* e largamente distribuídas no solo e na água; entre elas encontram-se os bacilos da tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis*) e os da hanseníase (*M. leprae*).

#### **VACINA BCG (BACILOS DE CALMETTE & GUÉRIN)**

Vacina preparada a partir de um clone de bacilos da tuberculose bovina, obtido pelos pesquisadores Albert Calmette e Camille Guérin, no Instituto Pasteur de Paris.

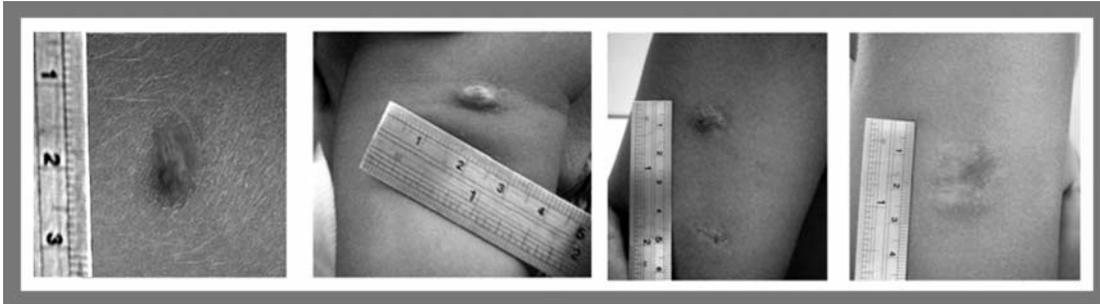
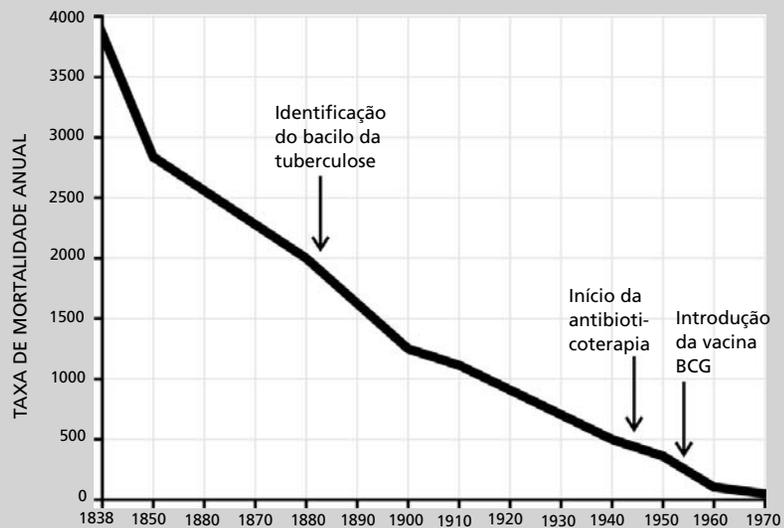


Figura 18.4: Fotos de quatro braços com marcas da vacina BCG.

Nos que são susceptíveis, ou seja, incompetentes metabolicamente para degradar as micobactérias vacinais, a infecção evolui para a forma sistêmica e, se atingir os tecidos ósseo ou nervoso central, é de difícil tratamento.

Felizmente, como pode ser percebido no gráfico da figura a seguir, disponível no endereço [www.unu.edu/unupress/food/8F104e/8F104E04.htm](http://www.unu.edu/unupress/food/8F104e/8F104E04.htm), a proporção de indivíduos susceptíveis à tuberculose decresceu, gradualmente, na população da Grã-Bretanha ao longo dos anos, mesmo antes da disponibilidade dos antibióticos e da vacina.



## A ETERNA BATALHA DO HOMEM CONTRA OS MICRÓBIOS

### A peste bubônica

Desde eras remotas, o caráter de resistência dos seres humanos às infecções microbianas vem sendo aperfeiçoado. Como exemplo, no flagelo mediado pela **PESTE BUBÔNICA**, enquanto não se conheciam medidas profiláticas nem tratamento com antibióticos, os indivíduos suscetíveis eram ceifados da população.

São muitos os relatos de epidemias de peste associada com a presença de roedores, principalmente o rato doméstico (*Rattus rattus*), cujas pulgas eram as responsáveis pela transmissão aos seres humanos. Em um ambiente sujo, sem as atuais noções de higiene, é de se prever que à medida que aumentava a população de roedores em torno das residências, a chance de ocorrer a peste aumentava. Acreditava-se, inclusive, que os ratos eram anunciadores da peste.

Essa aproximação dos roedores ocorria, geralmente, quando havia longos períodos de estiagem. Com a diminuição da disponibilidade de grãos nos campos, os ratos se aproximavam das residências. Quando os ratos morriam, as pulgas contaminadas iam buscar alimento nas pessoas. Como poderiam as pessoas imaginar que os ratos estavam contaminados? O agente microbiano da peste é a **YERSINIA PESTIS**. Nas comunidades humanas atingidas, os suscetíveis morriam, sobrando apenas os resistentes ao final das epidemias.

Relatos descrevem que, no final do ano de 542 e no início de 543, em Constantinopla, ocorreu uma epidemia de peste em que o número de mortes chegou a 10 mil por dia. Em cinco anos a população foi reduzida em 25% e a infecção esteve presente, de forma endêmica, durante 25 anos. A população da China foi reduzida de 123 milhões, no ano de 1200, para 65 milhões em 1393. Na Europa, durante o século XIV, essa seleção dizimou um terço da população, e, em algumas cidades, o efeito foi ainda mais catastrófico: Florença, Veneza, Siena e Oviedo, cidades florescentes na Renascença, chegaram a perder 60% dos seus habitantes. O escritor italiano Giovanni Boccaccio (1313-1375), ao descrever esse pandemônio, relatou que ele influiu na destituição da ordem social em todos os níveis, da família ao Estado. No ano de 1570, a peste chegou a Lisboa, durante o reinado de Dom Sebastião (o Desejado), e dizimou 90% de seus moradores. Em Paris, a taxa de mortalidade chegou a 800 por dia. Entre agosto e setembro de 1665, sete mil pessoas morriam por semana em Londres. No início do século XX, a Índia perdeu 10 milhões de habitantes. Desde então, os surtos de peste neste país têm sido limitados. Destes relatos deduz-se que os sobreviventes eram pessoas com repertório enzimático diversificado o suficiente para suplantarem o potencial digestor das *Yersinias*, no ambiente fagolisossomal.

O termo **BUBÔNICA** é referência aos bubões, isto é, gânglios linfáticos horrivelmente inchados, que aparecem como um dos primeiros sintomas da peste e que, quando tocados, fazem os pacientes urrar de dor. São resultantes da infecção por *Yersinia pestis*, que são cocobacilos Gram-negativos, imóveis. As células desses cocobacilos apresentam uma tendência de coloração acentuada nos pólos.

#### **YERSINIA PESTIS**

Bactérias Gram-negativas, classificadas na família Enterobacteriaceae. São encapsuladas, crescem em condições de aerobiose ou anaerobiose (facultativas). A cápsula dessas bactérias é composta por moléculas de lipopolissacarídeo (LPS), que atuam como uma potente toxina nos indivíduos suscetíveis.

Na Europa, no século XIV, a desordem que se seguia ao pandemônio da peste gerava a busca alucinada pelos culpados, sendo acusados principalmente os leprosos, porque eram indigentes; e os judeus, porque tinham posses. Milhares deles foram queimados vivos em fogueiras.

## A FEBRE TIFÓIDE

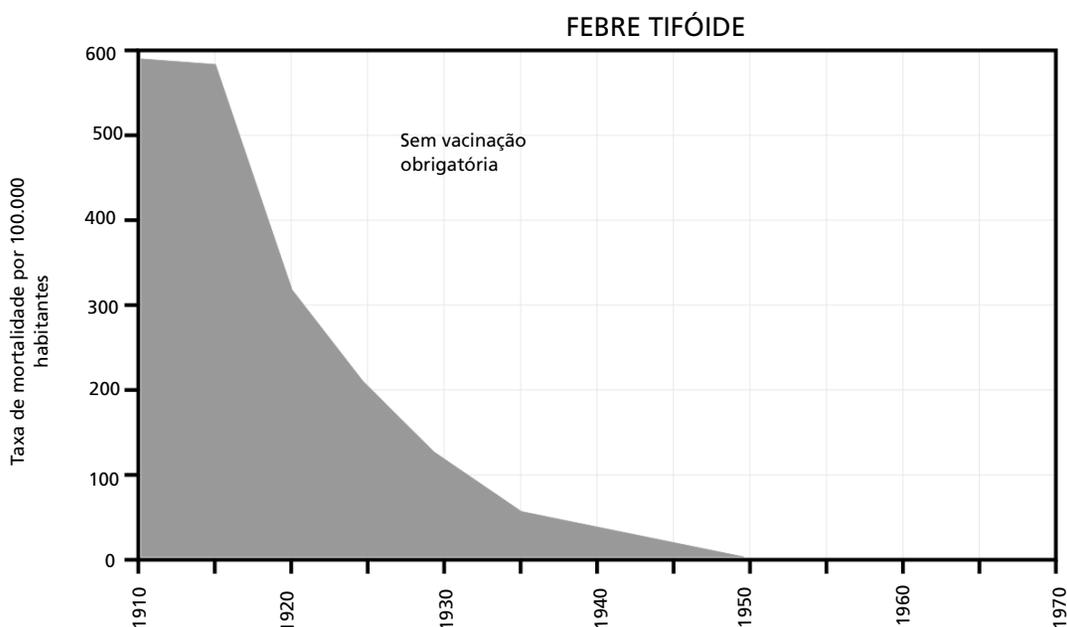
Outro tipo de infecção bacteriana do qual há também relatos históricos bem marcantes é a febre tifóide, usualmente associada à sujeira e contraída a partir da ingestão de alimentos ou água contaminada com produtos fecais. O tipo bacteriano associado é a *Salmonella typhi*, do grupo das Enterobactérias. Em virtude da transmissão dessa doença, seguir uma rota fecal-oral, numa época em que as condições de higiene e saúde pública não eram adequadas (como ainda não são em muitas regiões pobres do planeta), a possibilidade de contágio entre os seres humanos era muito grande. Assim, a infecção conduzia a um processo de seleção, favorecendo os indivíduos que resistiam às ações enzimáticas da *S. typhi*. Há pessoas que, embora resistentes à salmonelose, quando infectadas, passam a albergar o agente no intestino, sem desenvolver qualquer sintoma, embora estejam eliminando durante longo tempo os micróbios, que podem contaminar as pessoas com as quais convivem. Um exemplo amplamente divulgado dessa situação aconteceu em Nova York, nos EUA, na primeira década do século XX, envolvendo uma cozinheira chamada Mary Mallan.

### APLASIA MEDULAR

Diminuição mais ou menos intensa da capacidade hematopoética da medula óssea.

Mary Mallan, uma cozinheira, atraiu a atenção da imprensa pela primeira vez em 1906, quando o General William Henry Warren, ao alugar uma casa de praia para passar o verão com a família na baía de Oyster, a contratou. Em três semanas, seis das onze pessoas da casa apareceram com febre tifóide. O fato chamou a atenção das autoridades sanitárias para aquela casa, pois a febre tifóide é uma doença de notificação compulsória e não havia sido descrito nenhum outro caso na região. As investigações provaram que o foco da infecção estava na senhora Mallan e que esta estava envolvida em 14 outros casos por onde havia trabalhado durante os cinco anos precedentes. Os jornalistas da época cunharam para a Mary o codinome Mary Tifóide. Ela morreu de derrame, mas, investigações posteriores indicaram que ela esteve envolvida diretamente com 53 casos de febre tifóide, sendo três fatais. E você pensa que esse é um evento raro? Pois saiba que os jornais ingleses, em 1976, noticiaram uma matéria semelhante envolvendo uma cozinheira de um navio de cruzeiro do Mediterrâneo. Estima-se que, só nos EUA, existam, pelo menos, duas mil pessoas que carregam *S. typhi* como elementos da microbiota intestinal. Antes da disponibilidade de antibióticos para o tratamento, a salmonelose exercia um efeito seletivo sobre as grandes aglomerações humanas, favorecendo aos resistentes. A antibioticoterapia na salmonelose teve seu apogeu quando o cloranfenicol foi descoberto. Este antibiótico, embora altamente eficiente contra *S. typhi*, mostrou-se tóxico para as mitocôndrias das células humanas, principalmente para aquelas da medula óssea, causando APLASIA. Assim como este antibiótico, a tetraciclina também tem efeito adverso no tecido ósseo dos dentes em formação, dando, aos da segunda dentição, uma cor escura.

Graças à seleção natural, a predominância de indivíduos resistentes à febre tifóide na população cresceu ao longo das gerações, conforme você pode perceber analisando a **Figura 18.5**. Além do mais, o saneamento básico dos centros urbanos tem contribuído para a higienização do ambiente, fato que diminui, ainda mais, a probabilidade de um suscetível ser contaminado.



**Figura 18.5:** Taxa de mortalidade da febre tifóide nos EUA, no período de 1910 a 1970.

## A SÍFILIS

**DOENÇA VENÉREA** que começou a ser relatada a partir de 1530. O micróbio envolvido só foi reconhecido em 1905. Os relatos de sífilis, na época em que não existia tratamento com os antibióticos, descrevem que a infecção evoluía em três estágios. O primeiro, quando aparece a lesão primária no órgão genital. Esta lesão regride espontaneamente. Em 60% a cura é completa, sendo que, metade das pessoas curadas apresentam resposta imune, com presença de anticorpos reativos para os componentes dos treponemas e a outra metade não. Os outros 40% evoluem para os estágios secundário e terciário.

### DOENÇA VENÉREA

Relativa a Vênus, a deusa do amor. Mais apropriadamente denominada como doença sexualmente transmissível (DST).

A sífilis, ou lues, é relacionada com a infecção por *Treponema pallidum*, bactérias de forma espiralada, com 200nm de espessura e 10.000nm de comprimento.

A estrutura fina e o ágil movimento giratório destas bactérias permitem que elas penetrem no corpo, através da mucosa íntegra.

**PARESIA**

Perda parcial dos movimentos, decorrente de alterações degenerativas do sistema nervoso central.

O estágio secundário se instala após cinco a dez semanas, quando aparecem as lesões que consistem em uma erupção avermelhada, máculo-papular em várias partes do corpo. Nas regiões úmidas do corpo, essas erupções aparecem como pápulas pálidas e úmidas, chamadas condilomas. As lesões da fase secundária também regridem espontaneamente. O terceiro estágio da sífilis ocorre após cinco anos, com o aparecimento de lesões granulomatosas na pele, ossos, fígado e sistema nervoso central. Quando ocorre o comprometimento do sistema nervoso, as pessoas acometidas apresentam **PARESIA**.

A primeira descrição da sífilis foi feita na Europa, em 1494, quando o rei da França, junto com os espanhóis, invadiu a Itália. Esse embate teve pouca luta e muita farra dos soldados com as prostitutas que acompanhavam o exército, o que resultou num surto de sífilis que dizimou a tropa invasora, inclusive o comandante em chefe, o rei Carlos VIII, e depois se espalhou por toda a Europa. Uma vez que o surto inicial coincidiu com a volta de Colombo da América, os historiadores têm atribuído que o *T. pallidum* pegou carona em marinheiros que voltaram do Novo Mundo. Durante 50 anos, a sífilis dizimou 20% da população europeia.

Durante quase 500 anos, a sífilis representou um grande problema de saúde pública para a população humana, equivalente ao que hoje representa a AIDS. Também era considerada, por muitos, como um castigo de Deus, embora, como outras doenças sexualmente transmissíveis (DST), tenda a acompanhar a promiscuidade, o abuso de drogas injetáveis e a pobreza. A infecção crônica em mulheres pode ser passada para seus filhos durante a gestação. A transmissão vertical é responsável por abortos e natimortos. As crianças que chegam a nascer apresentam sinais da sífilis congênita, dentre eles, cegueira, má formações óssea e cerebral e lesões do sistema nervoso central.

Felizmente, as penicilinas têm efeito bactericida sobre os *T. pallidum*, portanto, podem ser usadas como tratamento dos infectados, salvando muita gente suscetível desse “castigo”.



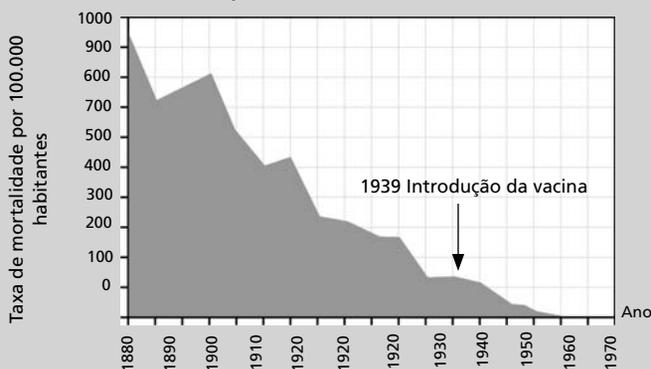
## ATIVIDADE

1. No que diz respeito à convivência das populações humanas com os micróbios, observe a figura a seguir, onde são mostrados, de forma gráfica, os dados estatísticos referentes à taxa de mortalidade por coqueluche, durante o período de 1880 a 1970. Levando em consideração que a vacina contra a coqueluche só foi disponibilizada em 1939 e, mesmo após a descoberta dos antibióticos, o efeito terapêutico destes é irrisório, a que você pode atribuir o declínio da taxa de mortalidade registrada na figura?

### COQUELUCHE

Doença, altamente contagiosa, resultante da infecção por bactérias da espécie *Bordetella pertussis*, também conhecidas como bacilos de Bordet & Gengou. Outra denominação para a doença é tosse comprida ou pertussis (em latim *Per tussis* = super tosse). Os doentes apresentam fortes ataques de tosse espasmódica, devido à irritação provocada pela toxina do corpo bacteriano sobre as células do epitélio da traquéia e dos brônquios. Em alguns acometidos, ocorre a morte decorrente da evolução da doença para pneumonia.

Coqueluche nos Estados Unidos



### RESPOSTA COMENTADA

*Seleção de resistentes. Observe que durante o período de 1880 até 1939 a população humana não dispunha de recursos terapêuticos. A doença é altamente contagiosa e acomete de forma mais grave as crianças com menos de um ano de vida. Portanto, aqueles que dispunham de repertório enzimático capaz de digerir os agentes microbianos e as suas toxinas, ao serem selecionados, passavam essa característica para a geração seguinte. Para reforçar essa conclusão, você pode acessar o site <http://www.vaclib.org/basic/history.htm>.*

Até aqui, você está percebendo que o potencial dos seres humanos para resistirem às infecções bacterianas, quaisquer que sejam elas, depende da amplitude do repertório enzimático que expressem. Quanto mais amplo este for, maior será a chance de superar essas infecções. Como foi mencionado, nos casos de cura espontânea da sífilis, há, inclusive,

### VARIÓLA

Doença resultante da infecção por um tipo de poxvírus, que são vírus com genoma de DNA, medindo 250 X 150 X 80nm. Lesões por varíola ocorrem em diferentes espécies animais. São denominados de *smallpox* os que infectam humanos, *monkeypox* os de macacos, *chickenpox* os de galinha e assim por diante.

### GRIPE

Virose que acomete as pessoas, geralmente, uma a duas vezes por ano. Os vírus da gripe estão classificados como *orthomyxovirus*. Há vários subtipos conhecidos, que se diferenciam de acordo com suas estruturas de superfície (hemaglutinina e neuraminidase). Em razão da via de transmissão ser por contato respiratório, essas viroses são de fácil disseminação.

### POLIOMIELITE

Doença paralítica resultante da inflamação da substância cinzenta da medula espinhal, devido à infecção por um dos três tipos de vírus da poliomielite, que são classificados como *picornavirus*.

pessoas que se livram da infecção sem produzir anticorpos, outros o fazem acompanhado da produção de anticorpos e há aqueles que sucumbem à infecção. No processo de seleção na Natureza, subentende-se que, quanto mais ampla for a versatilidade metabólica das células de um indivíduo, maior será a sua chance de resistir às infecções microbianas.

## A ETERNA BUSCA DO SER HUMANO PELA RESISTÊNCIA ÀS VIROSES

Nas Aulas 15 e 16 você aprendeu que a versatilidade metabólica das células, fruto de um repertório enzimático amplo, é o princípio básico que rege a produção de vírus e, conseqüentemente, o desenvolvimento das viroses. Dessa forma, como você viu na Aula 17, as viroses também contribuem para a seleção das espécies na Natureza, porém, de maneira inversa àquela suscitada pelas infecções microbianas.

Dentre os exemplos de barreiras seletivas, mediadas por viroses, que têm sido superadas pelos seres humanos, vamos fazer considerações sobre a **VARIÓLA**, a **GRIPE**, a **POLIOMIELITE**, a **DENGUE** e a **AIDS**.

### DENGUE

Virose associada a quatro tipos de flavivírus, que são os vírus da dengue 1, dengue 2, dengue 3 e dengue 4. Os vírus da dengue têm características estruturais semelhantes às dos vírus da febre amarela. A transmissão de uma pessoa doente para uma pessoa sadia, nas áreas urbanas, é feita pela picada da fêmea contaminada dos mosquitos *Aedes aegypti*.

### AIDS

A síndrome da imunodeficiência adquirida, conhecida nos países de língua oficial portuguesa como SIDA, exceto no Brasil, onde se usa a sigla em inglês AIDS, é uma síndrome resultante do comprometimento do sistema imune, devida à infecção pelos vírus da imunodeficiência humana adquirida (HIV).

## A VARIÓLA

Dentre as viroses com registro histórico mais detalhado, a varíola é a campeã. Desde o primeiro caso registrado, no antigo Egito, na múmia de Ramsés V (falecido em 1156 a.C.), até o último caso ocorrido em 1977, a varíola sempre esteve associada com milhões de mortes humanas. Os que sucumbiam eram aqueles que possuíam maior proporção de células com competência para produzir vírus, ou seja, demonstravam maior eficiência para desenvolver a infecção.

Muitas vezes, as coisas se passavam assim: viajantes chegavam às cidades com saúde, pouco tempo depois, tombavam subitamente doentes, ficavam acamados com dores por todo o corpo, febre muito alta e delírios. Dois a três dias depois, o mal-estar cessava e os doentes pareciam estar em convalescença, mas eis que, em seu rosto e por todo o corpo, apareciam máculas que se transformavam em pápulas que intumesciam, virando vesículas e depois pústulas que supuravam. A região supurada inchava e a febre voltava. Quando não morriam, ficavam com as marcas das pústulas. Mesmo assim, consideravam-se felizes, pois havia aqueles que ficavam surdos ou cegos ou com lesões cardíacas. Se os homens já se importavam em ter a face cheia de marcas, imagine o desespero das moças estigmatizadas pela virose!

No que tange ao processo de seleção, uma **EPIDEMIA** de varíola que atingiu o Oriente Médio, no ano de 165, ceifou a vida de, pelo menos, um terço dos súditos do Império Romano. Na Europa, as epidemias de varíola coincidiram com o retorno dos soldados das Cruzadas. Da Europa, foi levada pelos espanhóis para o Novo Mundo. Como consequência, grande parte da população dos astecas, maias e incas foi dizimada. Só em relação aos astecas, em 1520, metade da população sucumbiu à varíola.

Os europeus, como já haviam passado pela varíola, ao chegarem para colonizar os EUA, tiveram nessa virose seu principal aliado para reduzir a população indígena, nativa da América do Norte.

As epidemias de varíola continuaram a ocorrer ao longo dos séculos. Os relatos da Islândia mostram que, em 1707, um terço da população do país foi dizimada. Em 1717, na cidade de Boston, dos seis mil habitantes que contraíram a doença, 900 morreram. Na Rússia, estima-se que o número de vítimas em 1776 tenha chegado a dois milhões de pessoas.

A última década do século XVIII foram anos dramáticos em relação à varíola. Em certas regiões da Alemanha, um sexto da população foi dizimado. Na Prússia, só em 1796, foram 26.646 vítimas letais. Na França, um quarto dos habitantes sucumbiu à doença ou ficou desfigurado.

#### EPIDEMIA

Incidência, em curto período de tempo, de grande número de casos de uma doença, com rápida difusão que decresce após um certo período de tempo. Difere do termo endemia, o qual corresponde a uma situação de ocorrência de uma doença infecciosa, com baixa frequência numa determinada região, porém se mostra perene ao longo dos anos.

A varíola também faz parte das obras literárias brasileiras. Jorge Amado, em seu romance *Tereza Batista cansada de guerra*, descreve a solidariedade da personagem para com as vítimas da bexiga negra, outro nome pelo qual a varíola era conhecida.

**PÚSTULAS**

Vesículas purulentas da pele.

À medida que os seres humanos eram dizimados com a varíola, passavam a prevalecer aqueles que eram resistentes, ou seja, metabolicamente versáteis, mas nem tanto. Essa forma de seleção foi aprimorada na Europa, com o uso da variolização. Esta técnica já era executada pelos chineses, e consistia em esfregar nas crianças não atingidas pela varíola crostas de **PÚSTULAS** de convalescentes ou então introduzir-lhes essas crostas nas narinas. Foi divulgada na Europa pela esposa do embaixador inglês na Turquia, Lady Mary Wortley Montagu. Embora a maioria das pessoas assim inoculadas desenvolvesse formas brandas da doença, em algumas a doença era severa ou mesmo letal. E, nos resistentes, a infecção variólica não evoluía.

O efeito imprevisível da variolização foi superado graças à perspicácia do médico inglês Edward Jenner. Em 1798, ele percebeu que as ordenhadoras de vacas não tinham marcas de varíola pelo corpo, mas apenas em uma das mãos. Essa lesão era resultante da infecção localizada, adquirida a partir das lesões que apareciam na teta das vacas acometidas da varíola bovina. Ele também notou que as moças com essas marcas se mostravam protegidas contra a varíola, quando apareciam surtos na região. E, num processo serendipitoso, utilizou o material das lesões das vacas para induzir nas pessoas uma infecção localizada. As pessoas que curavam dessa infecção mostravam-se resistentes à varíola. Assim, teve início o processo de vacinação. Para lembrar um pouco mais sobre Jenner, retorne ao boxe da Aula 1.

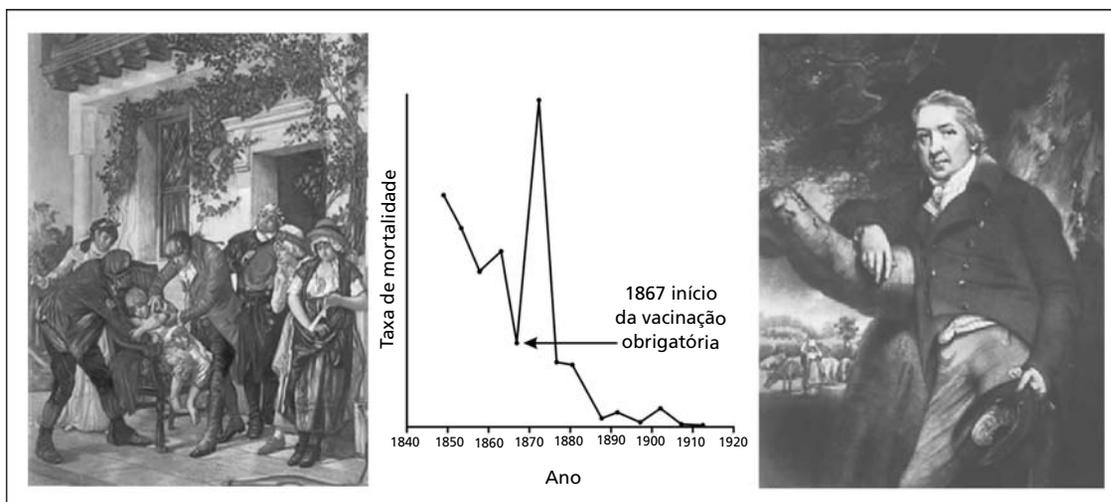
Em 1958, por proposta da União Soviética, a Organização Mundial de Saúde (OMS) iniciou um projeto de 330 milhões de dólares para distribuir preparações infecciosas de vírus vacinais para toda a humanidade. Dez anos após, a humanidade ficou livre dos casos de varíola, embora casos isolados, com certa freqüência, acontecessem em crianças **PRIMOVACINADAS** e em profissionais que se acidentavam em laboratórios de pesquisa.

**PRIMOVACINADO**

Vacinado pela primeira vez.

A **Figura 18.6** mostra pinturas referentes aos primórdios (1798) da vacinação antivariólica efetuada com amostras vacinais, infecciosas, oriundas de lesões variólicas bovinas. Analisando-se o gráfico, durante o período de 1850 a 1867, percebe-se que a população já mostrava uma tendência para o estado de resistência, fruto do efeito seletivo exercido pela infecção, ainda na época em que não havia a vacinação obrigatória.

Vírus da varíola humana, provenientes de crostas, continuam guardados em laboratórios dos EUA e da Rússia, o que gera um sentimento de intranquilidade face à possibilidade de esse material ser utilizado como arma de guerra. Entretanto, essa possibilidade esbarra na seguinte questão: onde estão os suscetíveis, se as gerações do presente são os descendentes dos sobreviventes do passado?



**Figura 18.6:** Eventos alusivos à vacinação antivariólica. À esquerda, uma tela mostrando uma cena de vacinação antivariólica em crianças. À direita, uma gravura de Edward Jenner com a ordenhadora ao fundo. No centro, a representação gráfica dos casos de morte com varíola.

**ATIVIDADE**



2. Os dados da OMS mostram que a partir de 1969 a varíola humana foi erradicada, mas a vacinação antivariólica continuou obrigatória no Brasil até 1980, quando então passou a ser proibida. Seu desafio é procurar na internet os fatores que justifiquem a erradicação da varíola e a proibição da vacinação antivariólica.

**RESPOSTA COMENTADA**

*Você sabe que para existir a doença é preciso que existam as pessoas suscetíveis e, os suscetíveis para as viroses são aqueles que têm repertório enzimático compatível para a produção dos vírus. Considerando que a preparação vacinal era constituída por partículas virais infecciosas, era de se esperar que na população existissem pessoas portadoras de maior ou menor proporção de células competentes. Estes últimos eram aqueles indivíduos descendentes das gerações resistentes. Nos indivíduos com proporção intermediária*

*ou ampla, a infecção vacinal tendia a ser mais severa, apresentando-se sob a forma de múltiplas lesões ou disseminada, podendo atingir órgãos internos, levando o indivíduo ao óbito ou a deficiências visuais e auditivas. A figura a seguir representa uma charge de 1802 que expressava os argumentos utilizados pelos opositores da vacinação proposta por Jenner. Embora a oposição tenha sido superada pelos defensores da utilização dos vírus de origem bovina para infectar seres humanos, praticamente 200 anos se passaram até que o conceito fosse invertido, com a proibição. Assim a exposição de pessoas à infecção vacinal se configura como uma roleta russa: quem herdou a competência?*



## A GRIPE

Outra virose bastante difundida entre os seres humanos é a gripe. Obviamente você já passou por algumas delas. Tal qual os furacões, os **SURTOS** e as epidemias de gripe também recebem nomes. A mais famosa do século XX foi a gripe espanhola, que ocorreu no segundo semestre de 1918. Originada nos EUA, atingiu a Europa em guerra e, a partir da Espanha, foi rapidamente difundida para o resto do mundo.

### **SURTO**

Aparecimento repentino de vários casos de uma doença num local.

O efeito dessa gripe foi devastador e estima-se que 5 a 7% da população mundial sucumbiu com essa virose. Em números, isso correspondeu a 50 milhões de pessoas. As situações mais dramáticas ocorreram nas cidades de Londres, Nova York e Rio de Janeiro. A onda epidêmica causou verdadeiros pandemônios. Imagine uma cidade onde 50% de seus habitantes estão com gripe e a doença evolui para pneumonia, deixando suas vítimas moribundas, acamadas e sem poder contar com a solidariedade de outras pessoas.



**Figura 18.7:** À esquerda- fotografia com máquina de alta velocidade (1/2000 de segundo), e com iluminação indireta, mostrando as gotículas de muco eliminadas num espirro. À direita – forma educada de se adquirir gripe, ao inspirar o ar para dizer saúde.

Quando a onda epidêmica atinge vários países, a situação é chamada **PANDEMIA**. As gripes pandêmicas funcionam, portanto, como uma malha seletiva para as populações humanas. Os resistentes se caracterizam por, mesmo contaminados, não desenvolverem a doença ou, se adoecerem, o quadro evolui para cura. Os suscetíveis sucumbem. Os sintomas de gripe começam após o período de incubação, que varia de algumas horas até dois dias. Iniciam-se com forte dor de cabeça, febre alta, tremores, desfalecimento, acompanhado de coriza, lacrimejamento, cansaço geral (astenia) e dores musculares (a interfere-se, você se lembra?).

A linha da curva no gráfico de temperatura corpórea começa alta, diminui no terceiro dia para em seguida aumentar, o que se traduz, graficamente, por um "V". A cura, quando ocorre, se dá no quarto ou

#### PANDEMIA

Palavra de origem grega, formada com o prefixo pan (todo) e demos (povo), foi pela primeira vez empregada por Platão, em seu *Livro das leis*, referindo-se a qualquer acontecimento capaz de alcançar toda a população. O conceito moderno de pandemia é o de uma epidemia de grandes proporções, que se espalha em vários países e em mais de um continente.

**PNEUMONIA**

Inflamação dos pulmões, provocada por infecção bacteriana ou viral.

**BRONCOPNEUMONIA**

Inflamação aguda que compromete os pulmões e os bronquíolos terminais, os quais, ao serem obstruídos por secreção mucopurulenta, levam os indivíduos à asfixia.

**PLEURISIA PURULENTA**

Infecção da pleura (camada serosa que recobre os pulmões), com secreção de pus.

quinto dia. Porém, a infecção pode evoluir para a forma de **PNEUMONIA, BRONCOPNEUMONIA** ou **PLEURISIA PURULENTA**, quando associada com agentes microbianos como hemófilos e estreptococos que, ao estabelecerem uma associação mórbida, potencializam a gravidade do quadro. Durante a fase gripal, o indivíduo através de tosse e espirro propicia às outras pessoas com quem convive, o direito de saberem se são sensíveis ou resistentes, como pode ser visto na **Figura 18.7**. As gotículas expelidas durante o espirro podem facilmente atingir as células vivas que estão presentes nas mucosas da conjuntiva, da boca e do nariz, principalmente, quando se inspira o ar para pronunciar a palavra “saúde”.

Os resistentes contaminados, de acordo com a proporção de células competentes, evoluem para a forma aparente (sintomática) ou inaparente (assintomática) da infecção. Em qualquer dessas circunstâncias, produzem anticorpos reativos para os componentes dos vírus. A concentração sérica desses anticorpos aumenta gradualmente até atingir um patamar e depois decresce. O modelo dessa curva de produção de anticorpos se assemelha ao modelo de uma curva de crescimento populacional de células clonadas, como você pode comparar vendo a Aula 6.

Em relação à mortalidade, a gripe asiática que grassou como uma pandemia em 1955, foi a segunda em gravidade, do século XX. Estima-se que, com gripe asiática, morreram um milhão de pessoas. Em 1967, ocorreu a pandemia pela gripe de Hong Kong, que levou 400 mil pessoas à morte. Quando o número de vítimas das três pandemias é analisado, em relação à população mundial, das respectivas épocas, é fácil perceber que a proporção de resistentes cresce exponencialmente, acompanhando o crescimento populacional ocorrido durante o período.

Dessa forma, fica fácil encontrar na população pessoas que curam espontaneamente suas gripes. Os suscetíveis, embora em pequena proporção, são encontrados entre as crianças ou os idosos. As crianças pela genética de suscetibilidade e os idosos pela fragilidade resultante do desgaste natural do organismo, agravada pelo efeito retardador da renovação celular mediado pela interferose.

Porém, o comprometimento celular com a virose é ampliado em função do estado de desnutrição dos indivíduos que, normalmente, passam a expressar repertório enzimático amplo para garantir a sobrevivência. Este tem se mostrado como um dos principais fatores que potencializam a gravidade não só da gripe como de qualquer outra virose. Este tipo de situação é mimetizada *in vitro*, como artifício pelos virologistas, a fim de criar a competência celular para produção de vírus, conforme você viu na Aula 16, quando você comparou a produção de vírus pelas bactérias cultivadas em meio rico e em meio pobre de nutrientes.

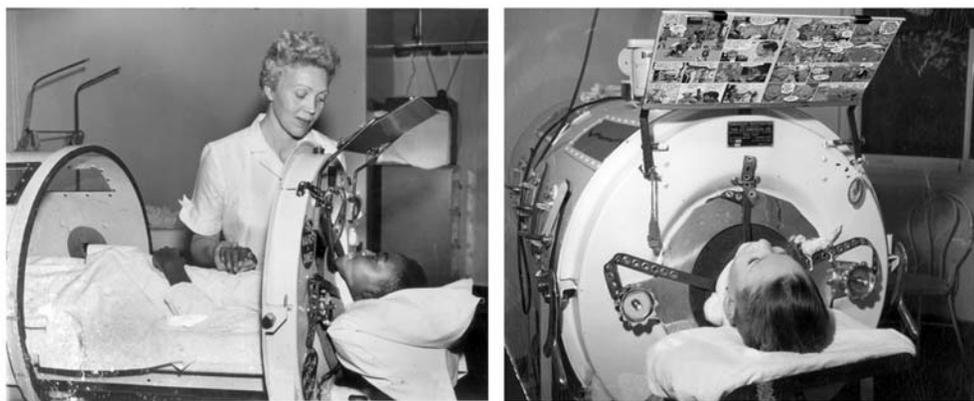
## A POLIOMIELITE

Este é outro tipo de infecção viral transmitida facilmente, de pessoa a pessoa, principalmente em conglomerados urbanos. A transmissão é do tipo horizontal. As pessoas contaminadas, inicialmente, disseminam os vírus através de perdigotos, tosse ou espirro e depois continuam eliminando vírus infecciosos nas fezes, por um período de até dois meses. Os indivíduos que desenvolvem poliomielite são aqueles nos quais a infecção compromete células da porção cinzenta da medula espinhal, posicionada na base do cérebro. A lesão neuronal se reflete sobre a função das fibras nervosas responsáveis pela atividade muscular motora. Essa disfunção muscular é responsável pela paralisia dos membros afetados. Sem estímulo para funcionar, o músculo atrofia. Quando o comprometimento atinge o **BULBO RAQUIANO**, a paralisia se faz sobre os músculos respiratórios. Sem respirar, a morte era certa mas, se os pacientes fossem mantidos respirando com o auxílio de um pulmão de aço, os que se recuperavam ficavam sem seqüelas.

### BULBO RAQUIANO OU RAQUIDIANO

Segmento do sistema nervoso central que, em direção ascendente, continua a medula espinhal e se comunica com o encéfalo, estando situado adiante do cerebelo.

Pulmão de Aço era um "respirador" utilizado na terapia intensiva de pessoas com poliomielite bulbar. O paciente ficava dentro da câmara, apenas com a cabeça do lado de fora. No interior da câmara, a pressão aumentava e diminuía de forma rítmica, contraindo e dilatando o tórax alternadamente. Desta maneira era mantida a respiração do paciente. O inconveniente era que as pessoas não podiam ser retiradas em hipótese alguma, sob pena de pararem de fazer as trocas gasosas dos tecidos. Você já imaginou a situação, durante uma semana ou mais? Na figura a seguir você vê uma criança sendo acomodada no pulmão de aço (à esquerda) e lendo um gibi para passar o tempo (à direita).



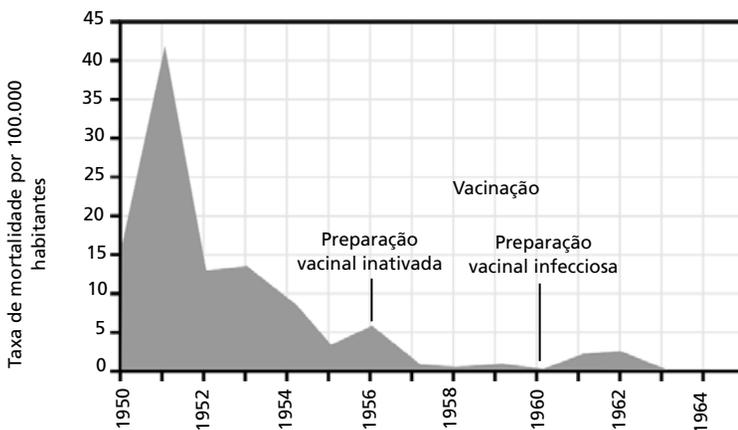
Acredita-se que a raça humana convive com as infecções por vírus da poliomielite desde os primórdios da civilização, haja vista a gravura, em baixo-relevo, da XVIII dinastia egípcia de 2000 a.C., que você pode ver na **Figura 18.8** e onde pode ser percebido um personagem com uma seqüela, sugestiva de poliomielite, na perna direita.



**Figura 18.8:** Cerâmica atribuída ao período da XVIII dinastia egípcia (1600-1300 a.C.), onde se observa a perna defeituosa de um dos personagens, sugestiva de seqüela da poliomielite.

O papel exercido pela poliomielite na seleção natural da espécie humana ficou evidente quando ocorreu um acidente em 1956. Quatrocentas mil crianças foram inoculadas com uma preparação vacinal do tipo Salk que, por um erro de fabricação, não havia sido inativada. Dos inoculados, 79 contraíram a poliomielite. Sessenta destes evoluíram para paralisia e 11 morreram. Os outros recuperaram-se sem seqüela.

As preparações vacinais utilizadas contra a poliomielite são de dois tipos: a preparação inativada pelo formol (vacina de Salk, aplicada, na forma injetável, a partir de 1956) e a preparação infecciosa (vacina de Sabin, de uso oral, adotada a partir de 1960).



A Figura 18.9 mostra a taxa de mortalidade de poliomielite na população dos EUA num período anterior e posterior às campanhas de vacinação contra esta virose, iniciadas em 1956, usando preparações com infecciosidade inativada (vacina de Salk) e, em 1960, empregando-se preparações infecciosas (vacina de Sabin).

**Figura 18.9:** Taxa de mortalidade por poliomielite nos EUA, e seleção pela vacinação.

**ATIVIDADE**

3. Em relação às viroses transmitidas de pessoa a pessoa de forma horizontal ou tangencial, descreva as atitudes que devem ser tomadas pela população a fim de evitar o contágio por viroses de transmissão respiratória, fecal-oral ou veiculada por vetores. Busque, além do texto desta aula, as informações necessárias para realizar a atividade. Lembre-se de que você pode encontrá-las nas aulas anteriores e na *web*.

---

---

---

**RESPOSTA COMENTADA**

*Você deve ter respondido que, de forma geral, a transmissão das viroses, como nas demais doenças contagiosas, está relacionada às atitudes comportamentais de uma sociedade, sendo, portanto, fruto dos seus padrões de Educação, seus usos e costumes.*

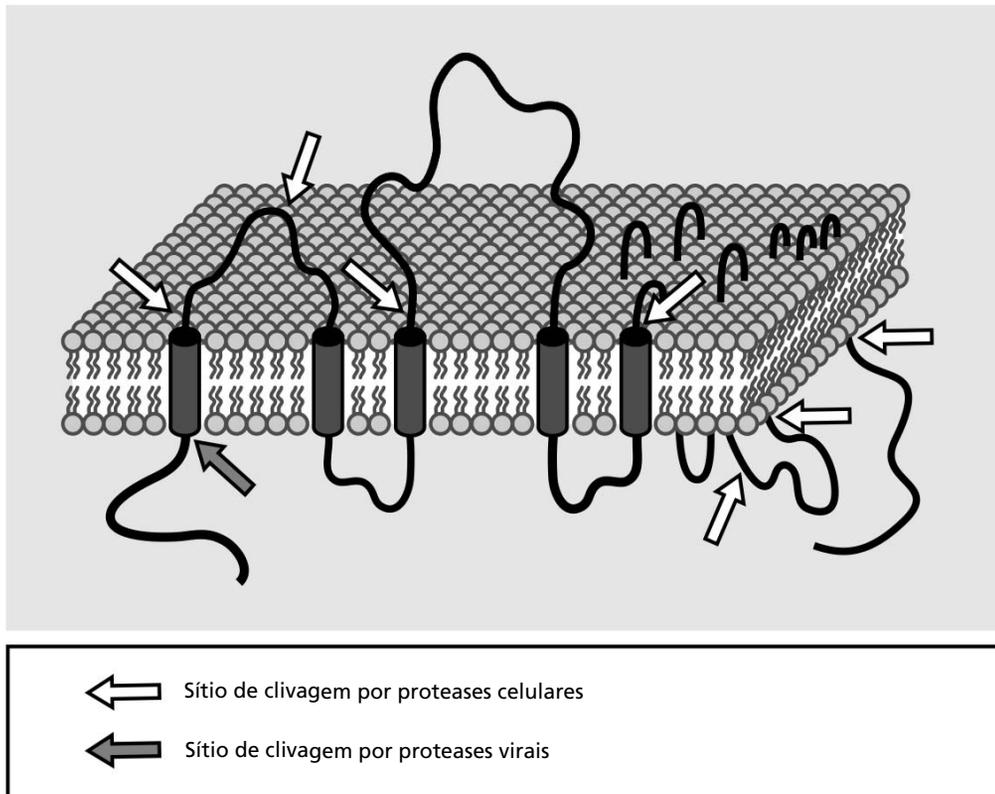
*Para as viroses de transmissão respiratória e/ou fecal-oral (gripe, sarampo, rubéola, hepatites A e E, poliomielite e outras viroses respiratórias e entéricas), a prevenção se alicerça nas práticas de higiene do corpo e dos alimentos, recomendando-se, também, evitar aglomerações e, ainda, que sejam executadas ações de saneamento básico para a população.*

*A lavagem das mãos, para se livrar dos micróbios dos outros; educação ao falar ou espirrar, evitando lançar perdigotos no ambiente; a higienização dos ambientes, utensílios e roupas e o tratamento de verduras cruas com solução de hipoclorito de sódio, são procedimentos essenciais, na prevenção desses tipos de infecções virais.*

*Para as viroses de transmissão tangencial como, por exemplo, hepatites B, C, B/D e infecção por HIV, dentre outras, a prevenção tem seu ponto chave na vigilância do sangue e hemoderivados a serem utilizados em transfusões; na prevenção de relações sexuais promíscuas; no uso de agulhas, seringas, lancetas e outros instrumentos pérfuro-cortantes descartáveis, ou devidamente esterilizados. Devem ser observados cuidados para não se criar vetores, tais como mosquitos transmissores da dengue e da febre amarela, bem como evitar o contato com animais silvestres, como raposas, morcegos, sagüis, roedores, cães e gatos vadios, em vista dos mesmos serem, dependendo da espécie, potenciais portadores de infecções virais, tais como raiva, hantavirose, arenavirose ou por outras viroses de caráter antrozoótico.*

## CONSIDERAÇÕES SOBRE OS VÍRUS DA DENGUE E DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA ADQUIRIDA

Dentre as viroses que atualmente afligem os habitantes das áreas urbanas tropicais, a dengue é um exemplo de flavivirose que pode acometer o mesmo ser humano quatro vezes, pois são quatro os tipos de vírus da dengue. A infecção transmitida pela picada das fêmeas dos mosquitos da espécie *Aedes aegypt* acomete, de forma inaparente, em torno de 90% dos indivíduos. A condição de doença acontece naqueles indivíduos constituídos por grande proporção de células com repertório enzimático capaz de atender a todas as etapas da síntese dos componentes virais. Na **Figura 18.10**, estão indicadas com setas claras as proteases constitutivas das células que são necessárias durante o processo de produção de vírus. Na falta de uma delas, a infecção é abortada, dando ao indivíduo a possibilidade de registrar este contato pela produção de anticorpos reativos para os componentes virais.

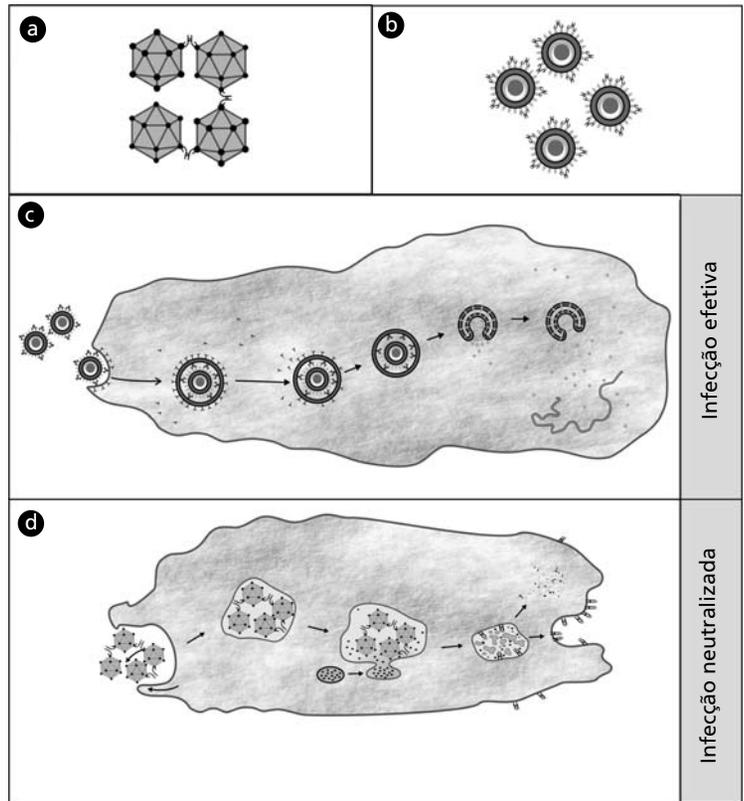


**Figura 18.10:** Representação esquemática da necessidade de repertório enzimático constitutivo celular para que ocorra a produção de vírus.

A presença de anticorpos gerados a partir de uma primeira infecção pode agravar a evolução de uma próxima infecção por um dos outros tipos de vírus da dengue. Por isso, uma segunda dengue tem mais chance de evoluir para a forma hemorrágica. Esse agravamento se deve ao fato da interação vírus-anticorpo ocorrer sem agregação das partículas. O complexo vírus-anticorpo assim formado pode ser mais facilmente capturado pelos monócitos pois, estes possuem receptores para a porção cristalizável das moléculas de anticorpos. Esta característica possibilita a captura dos vírus, preferencialmente, pelos monócitos. Ao endocitar as partículas individualizadas, cobertas de anticorpos, os monócitos se contaminam. Por outro lado,

quando a interação vírus-anticorpos se faz com agregação das partículas, esse agregado é fagocitado e imediatamente digerido, evitando, desta forma, que a célula seja contaminada, conforme você viu na Aula 17. A **Figura 18.11** mostra, de forma esquemática, como pode ocorrer a interação.

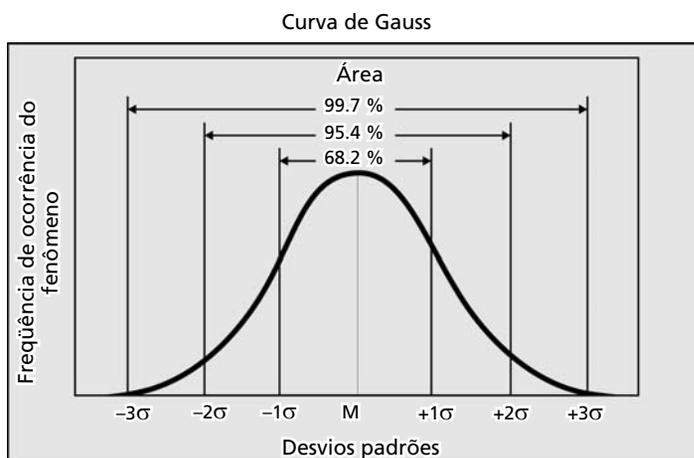
No que diz respeito à infecção pelos vírus da imunodeficiência humana adquirida (HIV), a OMS estima que até o final de 2010 existirão 70 milhões de infectados (<http://www.who.int/hiv/strategic/surveillance/pptneeds/en/>), podendo a transmissão ser tanto vertical como horizontal ou tangencial. A transmissão horizontal está diretamente relacionada ao comportamento de risco de pessoas que, esclarecidas, ou não, por meio da mídia oficial, ficam suscetíveis ao contágio. Uma vez contaminada, a pessoa passa a conviver com a virose de forma crônica. A disfunção tecidual decorrente da virose é a AIDS ou SIDA (síndrome da imunodeficiência adquirida) que pode aparecer entre 5 a 20 anos após o contágio. Embora existam quimioterápicos, estes apenas retardam a morte, mas a qualidade de vida dos indivíduos com AIDS, submetidos à quimioterapia, é regida pelos efeitos adversos dos medicamentos ingeridos.



**Figura 18.11:** Modelo de interação de moléculas de anticorpos com partículas virais. (a) formação de agregados; (b) partículas cobertas por anticorpos, individualizadas; (c) endocitose; (d) fagocitose.

## CONCLUSÃO

As infecções microbianas e virais sobre a espécie humana têm atuado como barreira seletiva. Esta seleção tem contribuído para o desenvolvimento de indivíduos cada vez mais saudáveis e resistentes aos agentes infecciosos em função do repertório enzimático celular. Na resistência às infecções microbianas são beneficiados aqueles com versatilidade metabólica ampla enquanto nas viroses o fenômeno se dá de maneira inversa. Diante desta perspectiva, é possível considerar que nós, que estamos vivos, somos metabolicamente seres quase perfeitos pois, resistimos às infecções microbianas e não sucumbimos às viroses. Assim, verifica-se que os indivíduos resistentes às infecções bacterianas ou virais passam essas características, de forma mendeliana, para as novas gerações. Um exemplo bem marcante deste fenômeno pode ser observado nas marcas presentes no braço daqueles nos quais foi aplicada a vacina contra a tuberculose e demonstraram ser capazes de eliminar o inóculo de um milhão de Bacilos de Calmette & Guérin (BCG). Se a infecção por *M. tuberculosis* é um exemplo de barreira seletiva microbiana, que favorece aqueles de maior versatilidade metabólica, as viroses e, historicamente, a infecção pelos vírus da varíola proporcionaram a seleção daqueles com repertório enzimático mediano. Dessa forma, considerando o modelo de uma curva de Gauss, para a distribuição do potencial metabólico da espécie humana, é possível concluir que a distribuição normal é obtida quando a maioria dos indivíduos está na média. Os extremos de competência restringem os indivíduos, como pode ser visto na **Figura 18.12**.



**Figura 18.12:** Modelo gaussiano de distribuição dos fenômenos na Natureza.  
Legenda:  $\sigma$  → desvio padrão; M → média aritmética

Considerando a distribuição dentro de um, dois ou três desvios padrões, esses valores abrangem, respectivamente, 68,2%, 95,4% e 99,7% da população. Estes valores, quando diminuídos de 100%, geram proporções de aproximadamente 1/3 (33%), 1/20 (5%) e 1/1000 (0,1%). Quando extrapoladas para os relatos epidêmicos encontrados ao longo da história da humanidade, a distribuição gaussiana espelha, de forma gráfica, as múltiplas situações em que nossos antepassados mostraram-se aptos a usufruir do ambiente terrestre.

### ATIVIDADE FINAL

O ser humano, como outros animais, tem os seus tecidos originados a partir da célula-ovo, cujas características genéticas determinam o potencial metabólico das células do indivíduo. A Natureza, no processo de eugenia positiva, seleciona os seres aptos à sobrevivência. Esta aptidão é atribuída ao repertório enzimático. Este repertório atua tanto nos processos de síntese como de degradação (proteassomal e lisossomal). Considere a tabela a seguir como um jogo de probabilidades, no qual se busca definir qual a chance de indivíduos que possuem células com capacidade para expressão de repertório enzimático mais amplo ou menos amplo (restrito) desenvolverem: infecções por agentes microbianos; resposta imune com produção de anticorpos e desenvolverem viroses. Diante dessas condições, substitua as interrogações pelos símbolos + ou –.

Chance ou probabilidade para:

Repertório enzimático das células do indivíduo	Categoria	Desenvolver infecções microbianas	Fazer resposta imune	Desenvolver quadros de viroses
	Amplo	?	?	?
	Restrito	?	?	?

**RESPOSTA COMENTADA**

*Estudando o que foi apresentado em relação às doenças bacterianas (tuberculose, peste bubônica, febre tifóide e sífilis), você pode deduzir que a instalação das doenças microbianas, como um todo, tem mais chance de acontecer naqueles indivíduos portadores de repertório enzimático restrito. Os indivíduos com repertório amplo têm mais chance de superar as ações enzimáticas dos micróbios no ambiente fagolisossomal. Da mesma forma, quanto maior for a capacidade digestora das células do indivíduo, menor é a chance de deixar resíduos para serem excitados. São esses resíduos que vão servir como estímulo para os linfócitos que desencadearão a resposta imune. Digestão de componentes microbianos sem resíduos pode ser observada nos indivíduos do grupo sanguíneo "AB" e naqueles 30% dos indivíduos que, contaminados com o T. palidum, curam da infecção, mas não apresentam anticorpos reativos para treponema.*

*Nas viroses, esse raciocínio é ao contrário, pois quanto mais ampla for a versatilidade metabólica das células do indivíduo, maior sua chance para produzir componentes virais. Como você viu na **Figura 18.10**, a possibilidade de uma célula fabricar vírus da dengue, ou outros flavivírus, depende da prévia expressão das enzimas proteolíticas que são necessárias para a clivagem, na luz do retículo, das proteínas neo-sintetizadas, codificadas pelo genoma viral. Portanto, parabéns se o seu quadro ficou conforme o descrito a seguir:*

*Chance ou probabilidade para:*

	<i>Categoria</i>	<i>Desenvolver infecções microbianas</i>	<i>Fazer resposta imune</i>	<i>Desenvolver quadros de viroses</i>
<i>Repertório enzimático das células do indivíduo</i>	<i>Ampla</i>	-	-	+
	<i>Restrito</i>	+	+	-

## RESUMO

O papel seletivo das infecções de etiologia microbiana e viral tem contribuído para a eugenia positiva dos elementos da população humana. Desta feita, muitos tipos de infecções que, no passado, dizimavam grande parte das comunidades, também atuavam como barreira que beneficiava aqueles naturalmente resistentes. Ao longo das gerações, a transferência das características genéticas propiciou a existência do ser humano com o perfil metabólico atual.

Convivemos cotidianamente com os micróbios do meio ambiente e do nosso próprio corpo. Proporcionalmente temos dez vezes mais células procarióticas do que eucarióticas descendentes da célula-ovo. Uma demonstração do potencial metabólico do ser humano para devorar micróbios pode ser observada nos indivíduos de acordo com a característica de seu grupo sanguíneo.

Por outro lado, a resistência às viroses vai ser tanto maior quanto menor for a versatilidade metabólica das células do indivíduo. Estudos recentes têm mostrado que esse fenômeno é marcado pelas enzimas proteolíticas celulares, que são necessárias à fabricação de diferentes componentes virais. A falta de uma destas aborta a infecção viral, porém no corpo humano as células onde isto acontece são lisadas por linfócitos citotóxicos. Os resíduos destas células, contendo componentes virais são removidos por células fagocitárias profissionais (monócitos e células dendríticas) que, ao exocitar resíduos destes componentes, possibilitam

a ANTICORPOGÊNESE, quando os resíduos chegam aos linfócitos B.

### ANTICORPOGÊNESE

Produção de anticorpos.

O bem-estar da humanidade deve-se também à gradual compreensão das noções de higiene e de nutrição, que contribuem para o equilíbrio fisiológico do organismo. As

conseqüências das infecções microbianas e virais são disfunções que, dependendo do grau de comprometimento, podem resultar em doença.

As doenças infecciosas como tuberculose, sífilis, peste bubônica e febre tifóide, mediadas por agentes bacterianos, assim como aquelas de etiologia viral como a varíola, a gripe, a poliomielite, a dengue e a AIDS, foram destacadas em razão do impacto que têm exercido nas comunidades humanas. O estudos epidêmicos dessas doenças têm demonstrado que a distribuição das mesmas na população se faz obedecendo uma distribuição gaussiana, que reforça a remoção natural de indivíduos da categoria metabólica posicionada nos extremos do repertório enzimático. Assim, pode-se considerar o repertório enzimático como o fator que representa o mínimo múltiplo comum das ciências microbianas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Agora que você está terminando nossa disciplina, é mister informá-lo de que o privilégio de ser universitário exige de você uma permanente busca pelo conhecimento, pois em Ciência todas as verdades são estados de ilusão temporários. O conteúdo apresentado na disciplina Microbiologia foi fruto de um trabalho perseverante e dedicado que envolveu não só os conteudistas mas também, de forma equivalente, o esmero do trabalho das equipes operacionais do CEDERJ.

Registramos aqui um agradecimento especial às revisoras Marta F. Abdala Mendes, no conteúdo e Luciana Messeder, na apresentação lingüística e, ainda, ao ilustrador Morvan de Araújo Neto, por terem dedicado, com muito esmero, seus talentos e atividades profissionais, para a concretização dos volumes que compõem o conteúdo desta disciplina.

Agora você tem a responsabilidade de difundir esse conhecimento, pois passou a fazer parte do grupo que compreende a Natureza sob uma perspectiva mais ampla, abrangendo desde os caracteres macroscópicos até os microscópicos, do antropocêntrico até o microbiano. Conforme o folclorista potiguar Câmara Cascudo (1898-1986): “O homem moderno deve estar sentado numa pilha de livros, com um telescópio num olho e um microscópio no outro”.

**Microbiologia**

Referências

## Aula 11

---

BIOLUMINESCENCE. Disponível em: <<http://www.hoala.org/marine%20biology/bioluminescence.html>>. Acesso em: 6 out. 2005.

EPITÉLIO. In: WIKIPÉDIA: a enciclopédia livre. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Epit%C3%A9lio>>. Acesso em: 6 out. 2005.

HOSSEINKHANI, Saman, Ph.D. *Bacterial*. Disponível em: <[http://www.modares.ac.ir/sci/saman\\_h/Pages/bacterial.htm](http://www.modares.ac.ir/sci/saman_h/Pages/bacterial.htm)>. Acesso em: 6 out. 2005.

MADIGAN, Michel T. *Microbiologia de Brock*. 10. ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004. 608 p.

STANIER, Roger Y.; DOUDOROFF, Michel; ADELBERG, Edward A. *Mundo dos micróbios*. São Paulo: Edgard Blücher, 1969. 741p.

STAPHYLOCOCCUS epidermidis. Disponível em: <<http://medinfo.ufl.edu/year2/mmid/bms5300/bugs/staepid.html>>. Acesso em: 6 out. 2005.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894 p.

## Aula 12

---

GUIMARÃES, A. M.; LIMA, J. D.; RIBEIRO, M F. B. Ultrastructure of Babesia equi trophozoites isolated in Minas Gerais. *Brazil. Pesq. Vet. Bras.*, v. 23, n. 3, p. 101-104, july./sept. 2003.

MADIGAN, Michel P. *Microbiologia de Brock*. 10. ed. Rio de Janeiro: Pearson Education do Brasil, 2004. 642 p.

PERRY, J. J.; STANLEY, J. T. *Microbiology: dynamics and diversity*. Florida: Saunders College Publishing, 1997. 911p.

RAVEN, Peter H.; EVERT, Ray F.; EICHHORN, Susan E. *Biologia vegetal*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 906p.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. *Microbiologia*. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 718p.

## Aula 13

---

ATLAS, Ronald. *Principles of microbiology*. 2. ed. Dubuque: Wm. C. Brown Publishers, 1996.

LIMA, Urgel de Almeida et al. *Biotecnologia industrial: processos fermentativos e enzimáticos*. São Paulo: Edgard Blucher, 2001. v. 3.

MADIGAN, Michael T. *Microbiologia de Brock*. 10. ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004. 608 p.

TORTORA, Gerard. J. *Microbiology: an introduction*. 6. ed. New York: Addison Wesley Longman, 1997. 832 p.

## Aula 14

---

DOOLITTLE, W.F.U rooting the tree of life. *Sci. Am.* vol 282(2):90-95. 2000.

MADIGAN, Michel T. *Microbiologia de Brock*. 10. ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004. 608 p.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894 p.

## Aula 15

---

DIMMOCK, N. J.; PRIMROSE, S. B. *Introduction to modern virology*. 4. ed. London: Blackwell Science, 1995. 384p.

LEVINE, Arnold J. *Viruses. Scientific American Library*, New York, 1992.

LODISH, H. et al. *Molecular cell biology*. 4. ed. New York: W. H. Freeman and Company, 1999. 1177p.

MOLLA, P. A.V.; WIMMER, E. Cell-free: de novo synthesis of poliovirus. *Science*, n. 254, p. 1647-1651, 1991.

RAVEN, Peter; JOHNSON, G. B. *Biology*. 2nd ed. St. Louis: Mosby College Publishing, 1989. 1264 p.

SCHAFFER, F.L.; SCHWERDT, C. E. Crystallization of Purified MEF-1 Poliomyelitis virus Particles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1995 December 15; 41(12): 1020-1023.

## Aula 16

---

BALUSKA, F.; VOLKMAN, D.; BARLOW, P.W. Eukariotic cells and their cell Bodies: cell theory revised. *Annals of Botany*, v. 94, p. 9-32, 2004.

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). *Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*. 3. ed. São Paulo: Agronômica CERES, 1995. 919p. v. 2

COSTA, A. S.; MÜLLER, G. N.; GUIRADO, N. Contribuições do Instituto Agronômico de Campinas IAC na área das viroses e moléstias semelhantes dos citros. Brasília: MCT/SECAV. 1998. 75p.

JAWETZ, E.; MELNICK, J. L.; ADELBERG, E A. *Review of Medical Microbiology*. 17 th ed. California: Appleton & Lange, 1987. 595p.

LEVY, J. A.; FRAENKEL-CONRAT, H.; OWENS, R. A. *Virology*. 3rd edition. New Jersey: Prentice-Hall, 1994. 447p.

PELCZAR, M.; REID, R. D. *Microbiology*. 2nd edition. new York: McGraw-Hill, 1965. 662p.

TORTORA, G. J; FUNKE, B. R. ; CASE, C. L. *Microbiologia*. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894p.

## Aula 17

---

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. *Imunologia celular e molecular*. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. 580p.

BECKER, J. C. T-cell clonality in immune responses. *Immunology Today*. v. 21, n. 2, p. 107, 2000.

- BROWN, S. L.; BLALOCK, J. E. *Neuroendocrine Immune Interactions*. Oxford: Oxford University Press, 1990. 424p.
- DARNEL, J.; LODISH, H.; BALTIMORE, D. *Molecular cell biology*. New York: Scientific American, 1986. 1193p .
- DIMMOCK, N. J.; PRIMROSE, S. B. *Introduction to modern virology*. 4th ed. New York: Blackwell Science, 1995. 384p.
- GALLAGHER, R. B. Population Biology of Lymphocytes, *Science*, v. 276, 1997.
- GRABAR, P. Self and Not-self in Immunology. *The Lancet*, v. 29, 1320-1322, June 1974.
- ISAACS, A. Interferon. *Sci. Amer.* v. 204, n. 5, p. 51-58, 1961.
- JOHNSON, H. M. et al. How Interferons Fight Disease. *Sci. Amer.*, p. 40-47. 1994.
- LEVINE, A.J. *Viruses*. New York: Scientific American Library, 1992. 241p.
- LODISH, H. et al. *Molecular cell biology*. 4th edition. New York: W. H. Freeman and Company, 1999. 1177p.
- MCLEAN, A. R. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 94, p. 5792-5797, 1997.
- MAINI, M.K. et al. T-Cell clonality in immune responses. *Immunology Today*, v. 20, n. 6, p. 262-266, 1999.
- VERMEULEN, K.; BOCKSTAELE, D.R.; BERNEMAN, Z. N. The cell cycle: a review of deregulation and therapeutic targets in câncer. *Cell Prolif.*, v. 36, p. 131 -149. 2003.

- BIDDLE, W. *Guia de batalha contra os germes*. Rio de Janeiro: Record, 1998. 220p.
- CARVALHO, S. A.; MÜLLER, G.W. Programas visam garantir qualidade de material genético. *Revista 70 anos, CCSM/IAC*, p. 26 - 28, 1998.
- DARNELL, J.; LODISH, H.; BALTIMORE, D. *Molecular Cell Biology*. *Sci. Ammer. Books*. New York, 1986. 1193p.
- DE MEIS, Leopoldo. *Ciência, educação e o conflito humano-tecnológico*. 2. ed. São Paulo: SENAC, 2002. 145p.
- LUDOVICI, L.J. *O mundo do microscópio*. 2. ed. Rio de Janeiro: Fundo de Cultura, 1964.
- MCKEOWN, T. *The modern rise of population*. New York: Academic Press, 1967. 176p.
- PHILLIPS, A. *An introduction to the contradictions between medical science and immunization policy*. Disponível em: <<http://www.unc.edu/~aphillip/www/chf/myths/dvm1.htm>>. Acessado em: 9 fev. 2006.
- RADETSKY, P. *The Invisible Invaders: viruses and the scientists who pursue them*. Toronto: Little, Brown & Company, 1994. 446 p.
- RORIZ, A. *O desejado: A fascinante história de Dom Sebastião*. São Paulo: Ediouro Publicações, 2002. 315p.
- SHOENFELD, Y. ; ARON-MAOR, A. Vaccination and Autoimmunity – “ Vaccinosis”: a dangerous liaison? *J. Autoimm*, v. 14, p. 1-10, 2000.
- VON DRIGALSKI, W.; LOT, F. *O homem contra os micróbios*. Belo Horizonte: Itatiaia, 1964. 277p.





**UENF**  
Universidade Estadual  
do Norte Fluminense



Universidade Federal Fluminense



SECRETARIA DE  
CIÊNCIA E TECNOLOGIA



Ministério  
da Educação

