



# Microbiologia e Immunologia



# **Microbiologia e Imunologia**

Paula Araujo Monteiro

© 2018 por Editora e Distribuidora Educacional S.A.

Todos os direitos reservados. Nenhuma parte desta publicação poderá ser reproduzida ou transmitida de qualquer modo ou por qualquer outro meio, eletrônico ou mecânico, incluindo fotocópia, gravação ou qualquer outro tipo de sistema de armazenamento e transmissão de informação, sem prévia autorização, por escrito, da Editora e Distribuidora Educacional S.A.

**Presidente**

Rodrigo Galindo

**Vice-Presidente Acadêmico de Graduação**

Mário Ghio Júnior

**Conselho Acadêmico**

Ana Lucia Jankovic Barduchi

Camila Cardoso Rotella

Danielly Nunes Andrade Noé

Grasiele Aparecida Lourenço

Isabel Cristina Chagas Barbin

Lidiane Cristina Vivaldini Olo

Thatiane Cristina dos Santos de Carvalho Ribeiro

**Revisão Técnica**

Priscila Perez Domingos

**Editorial**

Camila Cardoso Rotella (Diretora)

Lidiane Cristina Vivaldini Olo (Gerente)

Elmir Carvalho da Silva (Coordenador)

Leticia Bento Pieroni (Coordenadora)

Renata Jéssica Galdino (Coordenadora)

---

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Mafra, Paula Araujo Monteiro  
M187m Microbiologia e imunologia / Paula Araujo  
Monteiro Mafra. – Londrina : Editora e Distribuidora  
Educacional S.A., 2018.

200 p.

ISBN 978-85-522-0568-5

1. 1. Microbiologia. 2. Imunologia. I. Título.

CDD 616.079

---

Thamiris Mantovani CRB-8/9491

2018  
Editora e Distribuidora Educacional S.A.  
Avenida Paris, 675 – Parque Residencial João Piza  
CEP: 86041-100 – Londrina – PR  
e-mail: editora.educacional@kroton.com.br  
Homepage: <http://www.kroton.com.br/>

# Sumário

<b>Unidade 1   Microrganismos e vírus</b>	<b>7</b>
Seção 1.1 - Aspectos morfofisiológicos e genéticos das bactérias	9
Seção 1.2 - Relação parasito-hospedeiro na infecção bacteriana	25
Seção 1.3 - Características e replicação dos vírus	39
<b>Unidade 2   Mecanismos de controle microbiológico</b>	<b>57</b>
Seção 2.1 - Aspectos morfofisiológicos e genéticos dos fungos	59
Seção 2.2 - Controle das interferências fúngicas e virais	74
Seção 2.3 - Esterilização e meios de cultura	90
<b>Unidade 3   Sistema imunológico e mecanismos das respostas imunes</b>	<b>105</b>
Seção 3.1 - Imunoglobulinas	107
Seção 3.2 - Imunidade	121
Seção 3.3 - Autoimunidade	136
<b>Unidade 4   Imunologia aplicada às ciências biológicas</b>	<b>151</b>
Seção 4.1 - Imunodeficiências	153
Seção 4.2 - Produção e aplicação de vacinas e soros	168
Seção 4.3 - Imunodiagnóstico	183



## Palavras do autor

Prezado aluno, iniciaremos agora a disciplina microbiologia e Imunologia para tomarmos conhecimento do vasto mundo microbiológico, seus atores e como o corpo humano lida com a invasão desses, nem sempre desejados, hóspedes. Também viajaremos pelos componentes imunológicos de nossa fisiologia, compreendendo seu papel e suas interações que visam ao equilíbrio e à homeostase de nosso corpo.

Prepare-se para embarcar em um novo mundo, bem pequenininho, mas igualmente fascinante e surpreendente. Depois dessa jornada, os microrganismos não estarão tão “invisíveis” assim!

Apesar da abordagem teórica, é importante associar os conceitos que serão discutidos neste livro-texto com o dia a dia. Afinal, os microrganismos estão em todos os lugares, assim como os processos imunológicos se associam desde a um simples espirro até mesmo a doenças incuráveis. Por isso, siga as orientações do livro didático, acesse os links sugeridos, busque imagens e vídeos na internet, e deixe-se encantar-se por esse conteúdo!

Na primeira unidade dessa viagem, estudaremos as características morfofisiológicas e genéticas das bactérias, sua relação com os hospedeiros durante uma infecção e iniciaremos nosso estudo de virologia. Na segunda unidade, estudaremos os fungos, o controle das infecções fúngicas e virais, aprenderemos algumas metodologias aplicadas em laboratórios de microbiologia como os processos de esterilização, preparo de meios de cultura e inoculação de bactérias, além de conhecer as normas de biossegurança nesse tipo de ambiente.

Já na terceira unidade, conheceremos as células que atuam em nosso sistema imunológico, os tipos de reações que levam aos diferentes tipos de imunidade, além das características da autoimunidade.

Para finalizar, na quarta unidade, estudaremos alguns tipos de imunodeficiências além da abordagem mais aplicada sobre a produção de vacinas, soros e os métodos de imunodiagnóstico e de avaliação da imunidade celular.

No fim dessa viagem, você será capaz de compreender como os microrganismos são, sua interação com o organismo humano e

sua importância para a humanidade. Também será expert nos atores envolvidos em nossa imunologia, bem como conhecerá melhor os processos envolvidos na resposta imunológica de nosso corpo.

# Microrganismos e vírus

## Convite ao estudo

À medida que avançamos pelo universo da biologia, conhecemos novos mundos com características incríveis e, por muito tempo, inimagináveis. Nessa primeira parte de nosso caminho, estudaremos as características de microrganismos como bactérias e vírus, e como funcionam sua interação e sua influência no corpo humano.

Vamos associar os conceitos aprendidos às situações possivelmente reais, como as vividas por uma caloura do curso de Ciências Biológicas. Encantada pela microbiologia, Ana Carolina está sedenta por conhecimento e não vê a hora de conseguir um estágio na área para, aprofundar em seus estudos. Nesse seu primeiro passo em direção à vida acadêmica, ela enfrentará desafios profissionais e pessoais, nos quais sua expertise em microbiologia poderá ajudá-la a superar as dificuldades e se sair muitíssimo bem como uma exemplar aspirante a microbiologista.

Assim como Ana Carolina, ao final dessa primeira etapa de nosso mundo microbiológico, você terá conhecido as características de bactérias e vírus.

Na Seção 1.1, começaremos o estudo dos microrganismos pelo Reino Monera, mais especificamente falando sobre as bactérias. Conheceremos suas características, morfologia, genética e reprodução, além de discutirmos sobre seus mecanismos de infecção. Na Seção 1.2, trataremos das consequências das infecções bacterianas para a saúde humana, estudando a relação parasito-hospedeiro e os mecanismos de resistência bacteriana. Nesse contexto, falaremos dos métodos de controle das infecções e as principais doenças infecciosas. Em nossa última seção, a 1.3, o assunto será o vírus. Falaremos de suas características, do seu ciclo de replicação e sua interação com os hospedeiros. Vamos, ainda, caracterizar os principais grupos de vírus e a sua interferência na saúde humana e no meio ambiente.

Nós, biólogos, temos paixão pelo conhecimento. Venha se envolver ainda mais nesse micro e, ao mesmo tempo, gigante mundo de vida, e deixe a microbiologia te encantar!

# Seção 1.1

## Aspectos morfofisiológicos e genéticos das bactérias

### Diálogo aberto

O estudo dos microrganismos é um assunto tão fascinante quanto a sua vasta área de aplicações. Tanto no ramo da pesquisa científica quanto no dia a dia da sociedade, esses pequenos seres são de extrema importância em muitos processos químicos e biológicos. Apaixonada por esse campo, Ana Carolina decidiu ingressar no curso de Ciências Biológicas e, logo na primeira semana de aula, decidiu conversar com um importante microbiologista de sua universidade, o professor doutor Áureo, a fim de pleitear uma oportunidade de estágio em seu grupo de pesquisas. Assim, Ana Carolina está prestes a entrar num novo universo de conhecimento e terá que lidar com os desafios que esse mundo científico lhe reserva.

Estudante novata apaixonada por microbiologia, ela conseguiu agendar um horário com o ocupado prof. dr. Áureo a fim de conversar sobre uma possível oportunidade de estágio. Por ser uma área que exige muita dedicação e estudo, ele decidiu avaliar a compatibilidade do grande interesse demonstrado pela aluna com o seu efetivo conhecimento prévio em microbiologia. Exigente e seletivo, ele propôs-lhe um desafio: a aluna teria a oportunidade de estágio se provasse sua paixão pela área. Assim, Ana Carolina, ainda que novata, precisaria demonstrar o seu conhecimento sobre as estruturas básicas dos dois grandes grupos de bactérias. Sendo assim, ele entregou-lhe papel e caneta e pediu que a aluna esquematizasse, com legendas, uma bactéria Gram-negativa e uma Gram-positiva. Quais características morfológicas e estruturais Ana Carolina deve evidenciar? Quais as diferenças entre os dois grupos citados? Quais aspectos práticos relacionados a esse assunto a aluna pode enumerar, impressionando seu possível tutor?

## Não pode faltar

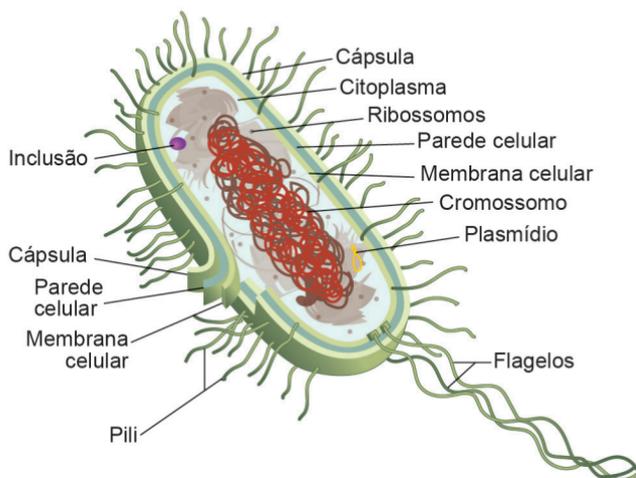
Mesmo que no dia a dia nós não notemos, os microrganismos são seres com importante papel em nossa vida. E não se trata apenas de entender a sua relação com as doenças causadas, mas também reconhecer a sua aplicação em benefício da humanidade e do nosso planeta – e, quem sabe, de outros planetas? Afinal, quem nunca ouviu falar da vida microbiana em Marte?

### 1.1.1 Características das células procariontes – Reino Monera

Nesse mundo microscópico incrível, estudaremos tanto organismos eucariontes quanto procariontes, que se distinguem basicamente pela estrutura e pela complexidade de sua organização celular.

Os **eucariontes** (ou eucariotos) são seres que apresentam núcleo organizado, envolto por uma membrana nuclear (*eu* = verdadeiro; *carion* = carion, que significa núcleo), e apresentam organelas como mitocôndrias, lisossomos e ribossomos maiores. Dentro desse grande grupo, estudaremos mais adiante os fungos. Já os seres **procariontes** (*protos* = primitivo), com algumas exceções, são tão pequenos que não passam de 10  $\mu\text{m}$  (1  $\mu\text{m}$  = 0,001 mm). São unicelulares e são muito simples em todos os níveis, exceto pela complexidade de seu envoltório celular. Além da função de permeabilidade seletiva e transporte de solutos, a **membrana citoplasmática** dos procariontes tem uma importante função no transporte de elétrons e fosforilação oxidativa em espécies aeróbicas. Assim, nas invaginações dessa membrana, estão presentes enzimas que participam da respiração celular.

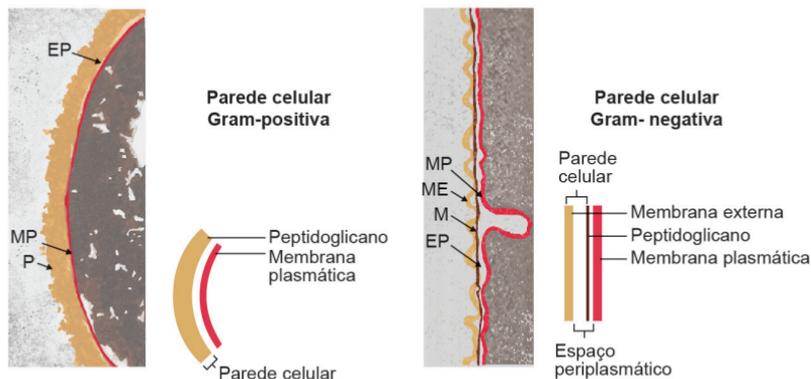
Figura 1.1 | Célula procarionte típica



Fonte: Burton e Engelkirk (2005, p. 44).

Outro componente presente nos procariontes é a **parede celular** localizada externamente à membrana plasmática. É formada por uma camada interna de **peptidoglicano**, envolta ou não por uma membrana externa. Tanto a composição quanto a espessura dessas camadas variam com o tipo de bactéria. As bactérias **Gram-positivas** apresentam uma espessa camada de peptidoglicano contendo moléculas de ácidos teicoico e lipoteicoico. Já as bactérias **Gram-negativas** possuem uma camada de peptidoglicano mais fina, porém, envolta por uma complexa membrana externa composta por lipopolissacarídeos, lipoproteínas e fosfolípidos.

Figura 1.2 | Parede bacteriana Gram-positiva (à esquerda) e Gram-negativa (à direita)



Fonte: Brooks et al. (2012, p. 22).

Alguns procariontes ainda apresentam estruturas especializadas externas à parede celular:

- **Cápsula** ou glicocálice: camada gelatinosa composta geralmente por polissacarídeos de constituição variando de acordo com a espécie. Além de determinar a virulência de bactérias, as cápsulas têm função aderente aos tecidos humanos, etapa fundamental no processo infeccioso. Os polissacarídeos também são utilizados como antígenos em determinadas vacinas, como a contra pneumonia.

- **Flagelo**: longo filamento que auxilia no movimento do microorganismo em direção a atrativos (quimiotaxia).

- **Pili**: são filamentos menores e mais fortes que os flagelos. Eles permitem a ligação das bactérias a receptores específicos das células hospedeiras e permitem o processo de conjugação, ou seja, a transferência de material genético de uma célula bacteriana para outra. A presença dessa estrutura aumenta a virulência bacteriana.

A principal característica desse grupo é a ausência de núcleo organizado. O chamado **nucleoide** é formado por uma única molécula de DNA circular, sem a presença de membrana nuclear. Além disso, pequenas moléculas de DNA circular extracromossômico também podem ser encontradas no citoplasma dos procariontes, são os **plasmídeos**. Eles não apresentam organelas e possuem ribossomos menores.



**Assimile**

Quadro 1.1 | Principais diferenças entre seres procariontes e eucariontes

Característica	Procariontes	Eucariontes
DNA envolto por membrana nuclear	Não	Sim
DNA associado com histonas	Não	Sim
Divisão mitótica	Não	Sim
Número de cromossomos	Um	Mais de um
Organelas membranosas	Não	Sim
Tamanho ribossomal	70S	80S
Parede celular contendo proteoglicano	Sim	Não

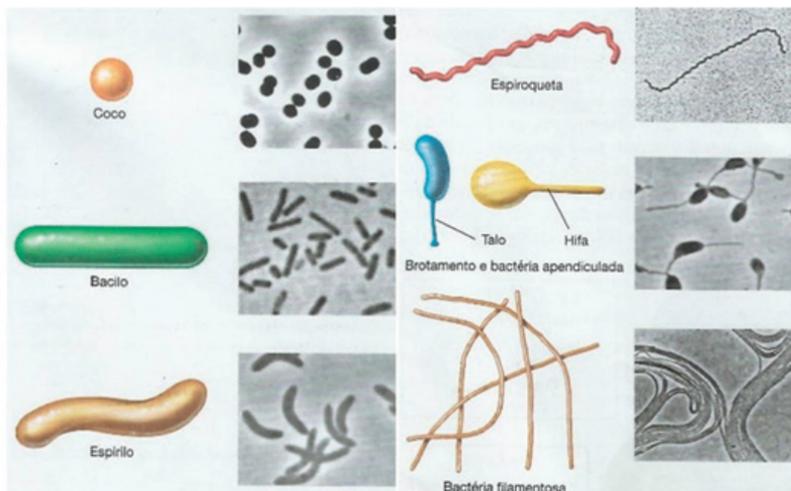
Fonte: adaptado de Levinson e Jawetz (2005, p. 15).

Os organismos procariontes compõem o **Reino Monera**, que é formado por **cianobactérias**, **arqueobactérias** e **bactérias**, sendo este último grupo o foco de nosso estudo a partir de agora.

### 1.1.2 Morfologia das células bacterianas

A maioria das bactérias tem um tamanho que pode variar de 0,2  $\mu\text{m}$  a 10  $\mu\text{m}$ . Sendo as bactérias organismos unicelulares, de acordo com a morfologia bacteriana, elas são classificadas em cocos (forma oval), bacilos ou bastonetes (forma cilíndrica) e espiroquetas ou espirilos (forma espiralada). De forma geral, baseado na morfologia bacteriana é possível prever a fisiologia, ecologia, filogenia ou mesmo seu potencial patogênico. Assim, as células de formato espiralado, por exemplo, apresentam boa mobilidade em ambientes viscosos, enquanto as células pequenas, como os cocos, têm uma otimizada captação de nutrientes.

Figura 1.3 | Morfologia celular bacteriana



Fonte: adaptada de Madigan et al. (2016, p. 33).

O agrupamento de bactérias de um determinado formato formará diferentes tipos de arranjos, conforme descrito no quadro a seguir:

Quadro 1.2 | Tipos de arranjos em agrupamentos de bactérias

Arranjo	Descrição	Aparência	Exemplo
Diplococos	Cocos aos pares		<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Diplobacilos	Bacilos aos pares		<i>Moraxella lacunata</i>
Estreptococos	Cocos em cadeia		<i>Streptococcus pyogenes</i>
Estreptobacilos	Bacilos em cadeia		<i>Streptobacillus moniliformis</i>
Estafilococos	Cocos em cachos		<i>Staphylococcus aureus</i>
Tétrade	Grupo de 4 cocos		<i>Micrococcus luteus</i>
Sarcina	Grupo de 8 cocos		<i>Sarcina ventriculi</i>

Fonte: adaptado de Burton e Engelkirk (2005, p. 72).

### 1.1.3 Caracterização dos processos fisiológicos das células bacterianas

A fisiologia bacteriana compreende os processos necessários para a manutenção da vida desses microrganismos, e, de acordo com o suprimento nutricional disponível, visa produzir mais células semelhantes a si mesma. De modo geral, as bactérias necessitam, em quantidades variadas, de acordo com a espécie, de **macronutrientes** (carbono, oxigênio, nitrogênio, hidrogênio, fósforo, enxofre, potássio, cálcio, magnésio e ferro), **micronutrientes** (manganês, cobalto, zinco, cobre, molibdênio, cromo, níquel, selênio e tungstênio) e **fatores de crescimento** (aminoácidos, purinas, pirimidinas, vitaminas, ácidos graxos insaturados e colesterol).

Os processos fisiológicos estão refletidos em reações químicas metabólicas, as quais rompem ligações químicas e liberam energia (**catabolismo**) ou levam à síntese de novas substâncias utilizando energia (**anabolismo**).

As bactérias podem ser classificadas de acordo com as fontes de energia e de carbono que utilizam para viver. Para obter carbono, as bactérias **heterotróficas** utilizam compostos orgânicos como carboidratos, enquanto as **autotróficas** usam compostos inorgânicos, como gás carbônico. Quando um grupo de bactérias utiliza compostos químicos orgânicos ou inorgânicos como fonte de energia, ele é classificado como **quimiotrófico**. Já as bactérias **fototróficas** necessitam de luz como fonte de energia.

No processo de obtenção de energia, as reações podem ou não utilizar oxigênio de acordo com a espécie bacteriana em questão. Assim, **organismos aeróbicos** obrigatórios realizam **respiração aeróbica**, na qual os compostos orgânicos são completamente degradados e a geração de ATP é dependente de oxigênio. As bactérias **aeróbicas facultativas** podem tanto fazer respiração (oxigênio presente) quanto fermentação (oxigênio ausente). Na **fermentação**, os compostos orgânicos são parcialmente degradados com a fosforilação do substrato utilizando a própria molécula orgânica como aceptora de elétrons. Existem ainda os organismos que realizam a **respiração anaeróbica**, em que ocorre a degradação completa do composto orgânico. Nesse caso, oceptor final de elétrons não é o oxigênio, mas, sim, o carbonato, o sulfato, o nitrato ou o fumarato, por exemplo. Por fim, os organismos **anaeróbicos obrigatórios** não são capazes de crescer na presença de oxigênio.

Vale lembrar que, além da disponibilidade de nutrientes e da presença ou ausência de oxigênio, outros fatores podem influenciar no metabolismo bacteriano, como temperatura, pH, umidade, pressão barométrica e pressão iônica.



### Pesquise mais

Aprofunde seus conhecimentos sobre o metabolismo bacteriano nas seguintes referências:

MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. Capítulo 3.

BURTON, G. R. W.; ENGELKIRK, P. G. **Microbiologia para as Ciências da Saúde**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. Capítulo 7.

LEVINSON, W.; JAWETZ, E. **Microbiologia médica e Imunologia**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Capítulo 3.



### Refleta

Suponha que você seja uma bactéria. Quais seriam as vantagens em ser uma célula pequena? Pense sobre a relação a área superficial e o volume celular, ou seja, a razão superfície-volume.

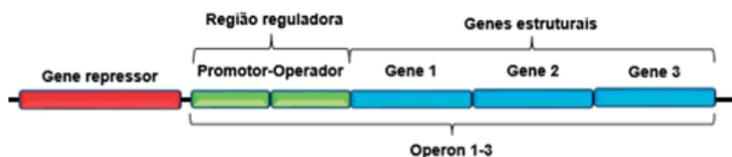
### 1.1.4 Genética e reprodução das bactérias

Tipicamente, uma bactéria, como a famosa *Escherichia coli*, possui uma molécula de DNA circular composto de aproximadamente 5 milhões de pares de bases. Esse material genético está disperso no citoplasma (**nucleoide**), ou seja, como já dissemos anteriormente, não se encontra delimitado por membrana. A maioria das bactérias, portanto, apresenta um único cromossomo (**haploide**) que contém todas as informações essenciais para a sobrevivência da célula. O cromossomo bacteriano é organizado na forma de **operons**, que são grupamentos de genes regulados em conjunto. Cada operon contém uma região reguladora que é composta por um **promotor** (controle da taxa de transcrição) e um **operador** (sinalizam a parada ou a continuidade da transcrição).



#### Exemplificando

Figura 1.4 | Esquema representativo de um operon bacteriano



Fonte: elaborada pelo autor.

Outro material genético muito comum nas bactérias são os **plasmídeos**, pequenas moléculas de DNA circular que se replicam independentemente dos cromossomos. Uma única célula bacteriana pode conter muitas cópias de um mesmo plasmídeo que, mesmo não carregando informações genéticas essenciais, podem propiciar uma vantagem adaptativa a esses microrganismos. Nesse sentido, existem os temidos plasmídeos de resistência, que representam uma ameaça à terapia antimicrobiana quando carregam informações que podem influenciar o fenótipo da célula bacteriana e dificultar sua eliminação do hospedeiro.

Assim, como em outros grupos de seres vivos, a variabilidade genética contribui para o sucesso dos organismos, e para as bactérias não é diferente. Dessa maneira, a variabilidade genética bacteriana se dá principalmente pela **mutação**, que ocorre durante a replicação cromossômica, e pela **recombinação genética**. Neste

segundo processo, ocorre a alteração do genótipo pela aquisição de material genético de outro organismo por meio dos plasmídeos em três diferentes processos: **transformação**, **conjugação** ou **transdução**.



## Assimile

Assista ao vídeo a seguir e assimile os processos utilizados na recombinação genética de bactérias.

TRANSFERÊNCIA de Material Genético em Bactérias. 28 abr. 2013.  
Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=GxnwmPnAW-8>>.  
Acesso em: 30 ago. 2017.

Para se reproduzir, primeiramente, a célula bacteriana multiplica seu material genético. Assim, o DNA bacteriano é replicado de forma **semiconservativa**, ou seja, cada uma das suas moléculas recém-formadas conserva uma das fitas da molécula que a originou e forma uma nova fita complementar ao seu molde. Duplicado o material genético, as células bacterianas vão se reproduzir por meio de **fissão binária**, ou seja, por meio da formação de septos que se dirigem da superfície para o interior celular, o indivíduo parietal forma duas células-filhas. Por isso as bactérias possuem o chamado **crescimento exponencial**. Este tipo de crescimento associado ao curto tempo necessário para a duplicação dos microrganismos é a receita perfeita para a rápida produção de números astronômicos de bactérias. A *Escherichia coli*, por exemplo, pode produzir mais de mil células-filhas em três horas e mais de um milhão de células em cerca de sete horas.

○ **ciclo de crescimento bacteriano** apresenta quatro fases:

- **Fase lag**: as células estão com alta atividade metabólica, mas ainda não se multiplicam. Nessa etapa, as bactérias captam nutrientes, sintetizam enzimas e se preparam para a divisão celular. Geralmente, é a fase na qual esses microrganismos estão se adaptando ao meio.

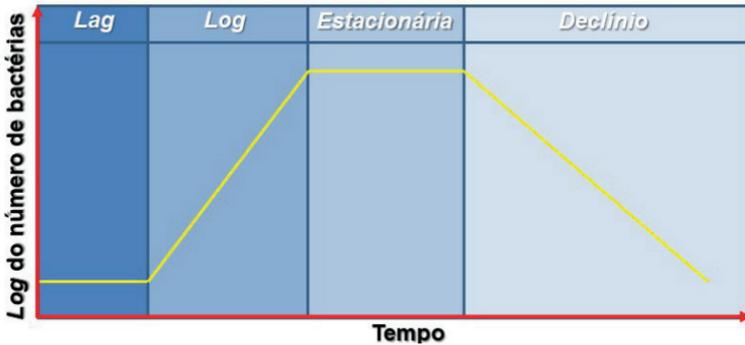
- **Fase log**: ocorre uma rápida divisão celular e o número de bactérias dobra a cada tempo de geração, ou seja, cresce exponencialmente.

- **Fase estacionária**: é a fase de maior densidade populacional.

Com a diminuição dos nutrientes e o aumento de metabólitos tóxicos, a velocidade da divisão diminui, ou seja, o número de células em divisão se iguala ao número de células que estão morrendo.

- **Fase de morte ou declínio:** com o aumento das condições desfavoráveis ao desenvolvimento da cultura, as células bacterianas morrem rapidamente.

Figura 1.5 | Curva de crescimento bacteriano típico



Fonte: elaborada pelo autor.

### 1.1.5 Mecanismo da infecção por bactérias

Quando falamos de **infecção**, devemos nos lembrar que esse termo indica a entrada de um organismo no corpo de outro organismo, por exemplo, a entrada de uma bactéria no corpo humano. Assim, nem sempre a palavra infecção relaciona-se diretamente com uma doença, uma vez que existem microrganismos patogênicos e não patogênicos. A grande maioria das infecções é assintomática, uma vez que a maior parte das bactérias presentes em nosso organismo não são patogênicas e, inclusive, fazem parte da nossa flora. Além disso, uma mesma bactéria comumente encontrada sem causar danos em um determinado tecido pode ter uma desastrosa patogenicidade quando infecta outro órgão ou tecido. É o caso da *Escherichia coli* habitualmente presente no trato intestinal que, eventualmente, pode chegar ao trato urinário e causar uma infecção patogênica. As bactérias levam o hospedeiro a adoecer principalmente pela produção de **toxinas, invasão e inflamação**. Os estágios da infecção bacteriana são elencados da seguinte forma:

- **Entrada** do patógeno a partir do contato do hospedeiro com uma fonte externa ou mesmo da passagem da bactéria de um tecido para outro.

- **Evasão das defesas primárias** como a pele e o ambiente estomacal ácido.

- **Aderência** a algum tecido do corpo. Nesse processo, as bactérias utilizam estruturas especializadas como os **pili**, que aumentam a capacidade de fixação, aumentando sua capacidade de causar doença.

- **Colonização** e crescimento no local da fixação.

- **Produção de toxinas** ou **inflamação**. Ambos os processos aumentam a patogenicidade da bactéria.

- **Evasão do sistema imunológico**.

- **Dano** ao(s) tecido(s) do hospedeiro com **prosseguimento** ou **erradicação** da doença.



**Pesquise mais**

Estude mais sobre os mecanismos de infecção bacteriana e saiba mais sobre a virulência das bactérias nas seguintes referências:

MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. Capítulo 3.

BURTON, G. R. W.; ENGELKIRK, P. G. **Microbiologia para as Ciências da Saúde**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. Capítulo 14.

LEVINSON, W.; JAWETZ, E. **Microbiologia médica e Imunologia**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Capítulo 7.

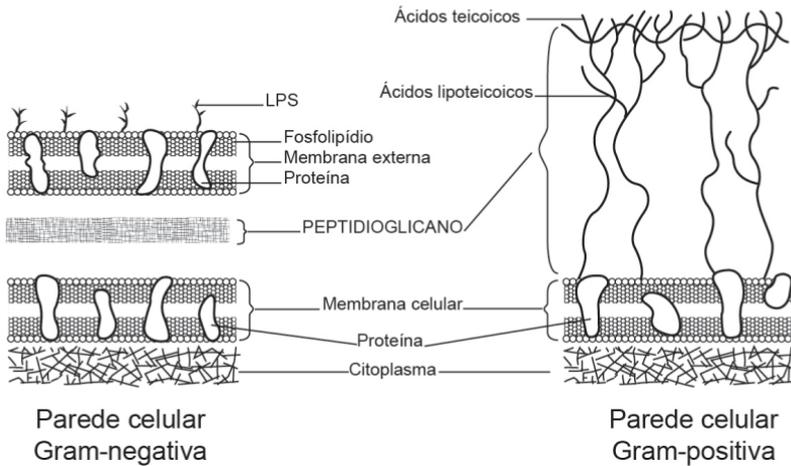
BROOKS, G. F. et al. **Microbiologia médica de Jawetz, Melnick e Adelberg**. 25. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012. Capítulo 9.

## Sem medo de errar

O primeiro contato com a carreira acadêmica foi impactante para Ana Carolina. Logo de cara, o professor Áureo propôs um

desafio para a aluna. Assim, para mostrar que é dedicada e está pronta para mergulhar de cabeça no mundo microbiológico, Ana Carolina precisaria demonstrar o seu conhecimento sobre as estruturas básicas dos dois grandes grupos de bactérias, fazendo um esquema completo com o maior número de características que ela conseguisse elencar. De formar confiante, Ana Carolina esquematizou uma bactéria Gram-positiva e uma Gram-negativa, evidenciando suas principais diferenças, conforme a figura a seguir.

Figura 1.6 | Principais diferenças entre bactérias Gram-positiva e Gram-negativa

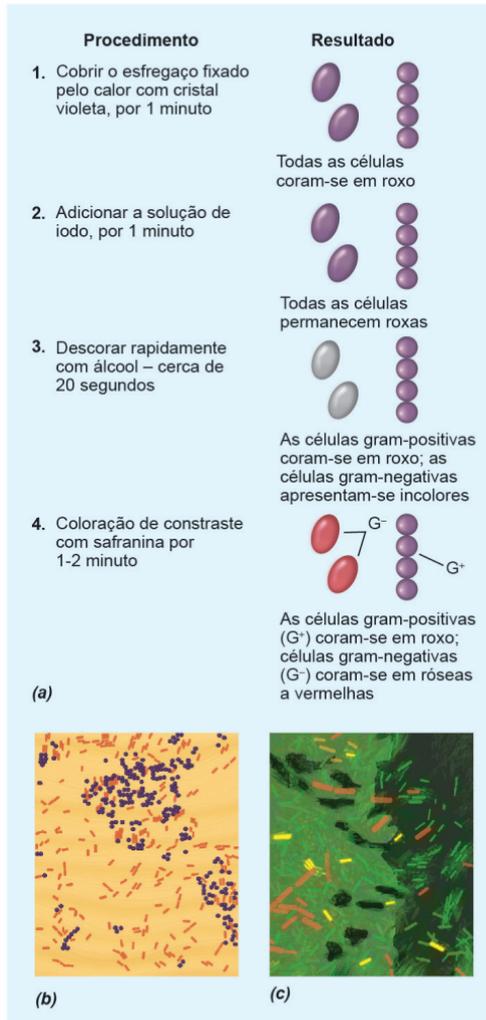


Fonte: Burton e Engelkirk (2005, p. 46).

Ana Carolina, explicou que é possível diferenciar esses dois grupos na prática, por meio de um tipo de coloração diferencial, a famosa coloração de Gram. Surpreendendo seu futuro tutor, ela explicou-lhe que, após a realização de uma sequência de coloração e descoloração, as bactérias Gram-positivas apresentam um tom azul-arroxeadado, já que não perdem a cor do corante cristal violeta. Já as Gram-negativas perdem a cor do primeiro corante e ficam róseo-avermelhadas devido ao uso de safranina. Assim, explicou-lhe que, para preparar uma lâmina corada diferencialmente com Gram, após a fixação da amostra na lâmina, aplica-se o cristal violeta e, depois, o lugol. Ambos os tipos de bactérias absorvem e fixam o corante e, por isso, ficam violetas. Então, a lâmina é submetida à descoloração por uma solução de etanol-acetona, que irá descolorir

as membranas externas das bactérias Gram-negativas e não irá descolorir as Gram-positivas. No passo seguinte, as amostras são coradas com safranina, e apenas as Gram-negativas absorvem o corante. Assim, ao microscópio óptico, é possível diferenciar essas duas categorias bacterianas.

Figura 1.7 | Coloração de Gram: (a) etapas do método de coloração de Gram; (b) bactérias Gram-positivas (roxas) e Gram-negativas (vermelhas) ao microscópio; (c) células submetidas à coloração fluorescente com células Gram-positivas (laranjas) e Gram-negativas (verdes)



Fonte: Madigan et al. (2016, p. 28).

## Avançando na prática

### Nem tudo é Gram

#### Descrição da situação-problema

Após comprovar que, ao menos na teoria, a futura cientista conhecia o método de coloração de Gram, o professor Áureo forneceu-lhe uma amostra não identificada para que Ana Carolina pudesse aprender na prática como essa coloração é feita. Sempre orientada quanto ao cuidado ao manipular microrganismos, Ana Carolina realizou os procedimentos com segurança e empenho. Com muita surpresa e sem compreender o ocorrido, ao observar a lâmina ao microscópio, a aluna observou tanto bastonetes avermelhados quanto bastonetes azulados. Olhando para o seu tutor, e percebendo um riso sarcástico, Ana Carolina deduziu que viria mais um desafio por aí. Sabendo que a amostra continha apenas uma espécie de bactéria, o que poderia ter ocorrido? Com relação à coloração, existiriam outras classificações para esse microrganismo?

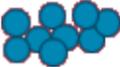
#### Resolução da situação-problema

Alguns grupos de bactérias não se coram consistentemente de azul ou de vermelho quando submetidos à coloração de Gram e, por essa razão, são classificadas como Gram-variáveis. São exemplos dessa categoria os membros do gênero *Mycobacterium*, como os bastonetes causadores da tuberculose e da lepra, *M. tuberculosis* e *M. leprae*, respectivamente. Assim, na amostra fornecida pelo professor Áureo, estavam presentes bactérias Gram-variáveis e, por esse motivo, Ana Carolina não obteve apenas uma cor de bactéria. As espécies do gênero *Mycobacterium* são identificadas utilizando uma técnica de coloração denominada álcool-ácido-resistente.

## Faça valer a pena

**1.** Bactérias são seres unicelulares que podem ter diferentes morfologias, apresentando-se com forma oval, cilíndrica ou espiralada. As bactérias podem, ainda, formar grupamentos, conforme mostrado na tabela a seguir: De acordo com a aparência do agrupamento bacteriano, classifique o tipo de arranjo:

Figura 1.8 | Tipos de agrupamento bacteriano

Arranjo	Aparência
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	

Fonte: elaborada pelo autor.

- a) 1-diplococos, 2-diplobacilos, 3-estreptococos, 4-estreptobacilos, 5-estafilococos, 6-tétrade, 7-sarcina.
- b) 1-diplococos, 2-diplobacilos, 3-estafilococos, 4-estreptobacilos, 5-estreptococos, 6-tétrade, 7-sarcina.
- c) 1-diplobacilos, 2-diplococos, 3-estreptobacilos, 4-estreptococos, 5-estafilobacilos, 6-tétrade, 7-sarcina.
- d) 1-diplococos, 2-diplobacilos, 3-estreptococos, 4-estreptobacilos, 5-estafilococos, 6-sarcina, 7-tétrade.
- e) 1-duplobacilos, 2-duplococos, 3-filabacilos, 4-filacocos, 5-estreptobacilos, 6-tétrade, 7-sarcina.

**2.** De modo geral, as bactérias são haploides, apresentando um único cromossomo formado por uma molécula de DNA circular composto de aproximadamente 5 milhões de pares de bases. Como todos os organismos procariontes, esse conteúdo genético encontra-se disperso no citoplasma e não delimitado por membrana nuclear.

Qual outro material genético pode ser comumente encontrado nas bactérias?

- a) Plasmídeos.
- b) DNA mitocondrial.
- c) Pili.
- d) Glicocálice.
- e) Histona.

**3.** As bactérias multiplicam-se por fissão binária de forma exponencial, ou seja, a cada tempo de geração o número de bactérias em uma cultura dobra. Esse processo é chamado de ciclo de crescimento bacteriano, apresenta quatro fases que ocorrem sempre na mesma sequência.

De acordo com o texto, quais são essas fases e em qual ordem ocorrem?

- a) Fase lag, fase log, fase estacionária, fase de declínio.
- b) Fase log, fase lag, fase estacionária, fase de morte.
- c) Fase estacionária, fase log, fase lag, fase de declínio.
- d) Fase estacionária, fase inclinada, fase ápice, fase de declínio.
- e) Fase base, fase inclinada, fase ápice, fase estacionária.

## Seção 1.2

### Relação parasito-hospedeiro na infecção bacteriana

#### Diálogo aberto

Após meses de aprendizado junto ao grupo de pesquisas do professor Áureo, Ana Carolina sente-se muito segura em sua escolha. Ela está tão encantada com esse novo universo, que passa várias horas no laboratório pesquisando sobre os microrganismos e é um exemplo de dedicação entre seus colegas. No entanto, ela se empolgou tanto com sua nova vida acadêmica, que andou se descuidando de sua própria saúde. Como dizem, “santo de casa não faz milagre”, e, em apenas seis meses, ela já apresentou três quadros recorrentes de infecção urinária bacteriana. Por diversas vezes, ao longo dos tratamentos, Ana Carolina tomou o antibiótico receitado pelo seu médico em horários errados, deixou de tomá-lo ou, mais grave ainda, assim que sentia uma melhora dos sintomas, ela abandonava o tratamento. Como já é a quarta vez que Ana Carolina apresenta os dolorosos sintomas dessa infecção, ela resolveu se atentar ao tratamento que, no momento, está sendo feito corretamente. Dessa vez, a estudante está um pouco apreensiva, uma vez que a cartela do antibiótico já está quase no final e Ana Carolina ainda não sentiu melhora alguma. O que pode ter ocorrido com o microrganismo causador desse tipo de infecção? Visto esse cenário, qual seria uma opção de um tratamento mais eficaz?

#### Não pode faltar

##### 1.2.1 Consequências das infecções por bactérias para a saúde humana

Um microrganismo só é considerado um patógeno se for capaz de causar uma doença. Nós possuímos muitos microrganismos “do bem” em nosso corpo, eles formam a chamada **microbiota endógena**, popularmente conhecida como “flora normal”. Neste contexto, esses microrganismos – bactérias, fungos, protozoários e vírus – vivem como uma equilibrada microbiota de corpo saudável

que, quando afetado, pode determinar o quadro adequado para o estabelecimento de alguma doença.



### Exemplificando

Conheça os diferentes grupos da microbiota humana no capítulo 10 de Brooks et al. (2012).

Leia mais sobre a microbiota humana na reportagem publicada na revista Ciência Hoje. Disponível em: <[http://www.cienciahoje.org.br/revista/materia/id/856/n/a\\_microbiota\\_humana](http://www.cienciahoje.org.br/revista/materia/id/856/n/a_microbiota_humana)>. Acesso em: 26 set. 2017.

Ainda que o termo bactéria patogênica cause certo medo, dentre as milhares de espécies, apenas algumas poucas são consideradas patogênicas em sua natureza ou podem vir a causar danos ao hospedeiro quando este apresenta seu equilíbrio fisiológico perturbado. Elas são chamadas de **bactérias oportunistas**, que é o caso da *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus sp.*

Dessa maneira, uma infecção seguida pelo desenvolvimento de uma doença ocorre quando as formas prejudiciais de bactérias, além de adentrar o corpo do hospedeiro, são também capazes de fixar-se ou aderir às suas células – geralmente no tecido epitelial – multiplicar-se e disseminar-se pelo corpo. De acordo com a espécie bacteriana e com o estado de saúde do hospedeiro, o prognóstico pode variar de leve a grave com diversas consequências fisiológicas. Nesse contexto, a principal complicação de uma infecção é chamada de **septicemia**, ou seja, o acometimento de diversos órgãos, podendo levar estes à falência e, em casos extremos, à morte do hospedeiro.



### Refleta

A relação estabelecida entre uma bactéria patogênica e o hospedeiro é denominada **parasitismo**, em que apenas um dos envolvidos obtém benefícios dentro da relação. Ecologicamente falando, não é contraditório o fato da bactéria levar o hospedeiro à morte, já que, nesse caso, o evento fada à morte a própria bactéria?

Refleta sobre o **comensalismo** como uma “forma estável” de vida parasitária, visto que a pressão seletiva da evolução tenta eliminar as relações parasito-hospedeiro e, portanto, prejudicial aos associados. Assim, as linhagens menos virulentas de microrganismos patogênicos sobrevivam nos hospedeiros, facilitando sua própria disseminação e substituindo grupos mais letais.

Alguns tipos de infecções são **transmissíveis**, passando de um hospedeiro para o outro. Quando uma doença é altamente transmissível, ela é considerada **contagiosa**. É aí que entra a macropreocupação com a saúde humana, ou seja, de que forma uma doença bacteriana é capaz de não apenas afetar um indivíduo, mas de se espalhar e acometer um grupo, ou até mesmo uma população. Por isso, quando pensamos nas consequências das infecções bacterianas para a saúde humana, precisamos abrir um novo assunto dentro da microbiologia: a **epidemiologia**. Esse campo estuda os fatores que denotam a frequência, a distribuição e determinantes das doenças nas populações humanas, em nosso estudo atual, as doenças bacterianas.

Falando em epidemiologia, é necessário ter em mente dois termos muito utilizados. A **incidência** de uma doença é caracterizada pela fração da população que contrai uma doença por um determinado período de tempo, ou seja, analisa o surgimento da doença. Já a **prevalência** é uma proporção, ou seja, é o número de pessoas que possui a doença num determinado período. A prevalência depende da incidência e do tempo de duração da doença.

Quando uma doença ocorre ocasionalmente numa determinada área e é mantida sob controle, ela é classificada como **esporádica**. É o caso da doença bacteriana causada pelo *Clostridium botulinum*, o botulismo, que pode eventualmente afetar um indivíduo.

Estando sempre presente em uma determinada população, em uma determinada área geográfica, a doença é classificada como **endêmica**. No Brasil, é o caso de doenças bacterianas como a cólera (*Vibrio cholerae*) e a tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis* ou bacilo de Koch). Vale lembrar que, especialmente no caso da cólera, problemas como a falta de água tratada e o esgoto a céu aberto de certas regiões contribuem para a proliferação dessa doença.

Uma doença endêmica pode vir a se tornar **epidêmica** quando a quantidade de casos aumenta em números fora do normal, numa região específica e em um tempo relativamente curto. Uma das epidemias bacterianas brasileiras mais recentes foi a que começou no ano 2000 com quase 1.000 óbitos causados por meningite (*Neisseria meningitidis*) e terminou em 2010.

O caso mais espantoso da abrangência de uma doença é a **pandemia**, na qual as proporções epidêmicas abrangem vários países ao mesmo tempo. Ao longo da história, tivemos diversos casos de pandemias bacterianas que assolaram continentes inteiros e dizimaram milhões de pessoas, como a peste negra causada pela bactéria *Yersinia pestis*, que causou 50 milhões de mortes no século XIV.



## Assimile

Leia mais sobre as grandes epidemias da história na matéria da revista Super Interessante. Disponível em: <<https://super.abril.com.br/saude/as-grandes-epidemias-ao-longo-da-historia/#>>. Acesso em: 14 set. 2017.

Saiba mais sobre a pandemia colérica no site da Sociedade Brasileira de Microbiologia. Disponível em: <<http://sbmicrobiologia.org.br/cientistas-investigam-origem-de-bacteria-pandemica-causadora-do-colera/>>. Acesso em: 14 set. 2017.

Leia também sobre a iminente pandemia da peste negra contemporânea na matéria do jornal O Globo. Disponível em: <<https://oglobo.globo.com/sociedade/ciencia/bacteria-da-pestes-negra-resiste-nos-roedores-atuais-pode-causar-nova-pandemia-11425796>>. Acesso em: 14 set. 2017.

### 1.2.2 Métodos de controle das infecções bacterianas

O controle das infecções bacterianas é feito quando se tomam medidas destinadas a evitar que as infecções sejam propagadas, tanto no ambiente social quanto hospitalar. Para isso, é necessário eliminar ou conter os reservatórios da infecção, interromper a transmissão do patógeno e proteger as pessoas de se tornarem infectadas. Em suma, o que se deseja é interromper a cadeia de infecção que envolve três fatores: o **agente**, o hospedeiro e o **meio de transmissão**. Dessa forma, eliminando um desses atores, pode-se quebrar a cadeia infecciosa.

Assim, quando se tem o agente e o hospedeiro, a disseminação das bactérias pode ocorrer de diferentes formas, tais como por meio de vetores contaminados como água, alimentos, ar, contato sexual, animais, contato com parte do corpo contaminada. Por isso, os métodos de controle de cada doença consideram, entre os principais fatores, a via de transmissão da bactéria patogênica.

Já diria o velho ditado: "é melhor prevenir do que remediar". Por isso, quando realizado de forma correta, o melhor método de controle das infecções bacterianas é a prevenção. Nesse sentido, diversos métodos de assepsia podem ser aplicados, desde hábitos simples do nosso dia a dia quanto aqueles procedimentos mais elaborados que são realizados em ambientes e materiais hospitalares.

Por isso, para o controle da disseminação bacteriana, um dos principais itens é a **higiene pessoal**, cuja principal, eficiente e mais simples regra é: lavar as mãos. Isso mesmo! Lavar as mãos, principalmente após usar o banheiro, antes de manipular alimentos e periodicamente quando em ambientes com muito fluxo de pessoas. Essa é a técnica mais básica e importante para prevenir, controlar e impedir a transmissão de patógenos. Outras atitudes triviais como cozinhar bem os alimentos, lavar adequadamente frutas, legumes e verduras, armazenar alimentos corretamente e não ter contato sexual sem o uso de preservativo são essenciais para evitar a propagação não só de doenças bacterianas, mas também de outros patógenos como vírus, protozoários e fungos.

Tanto em ambientes domésticos como em hospitais e laboratórios são utilizados agentes antimicrobianos ou processos que agem de diferentes maneiras:

- **Biocida**: agente químico ou físico que inativa microrganismos; geralmente é de largo espectro.

- **Bacteriostático**: agente biocida com capacidade de inibir a multiplicação de bactérias.

- **Bactericida**: agente biocida com capacidade de matar bactérias.

- **Esterilização**: processo utilizado para deixar uma superfície ou produto completamente livre de organismos viáveis, inclusive bactérias e esporos. A esterilização pode ser realizada por meio de agentes físicos (calor, radiação etc.) ou químicos (peróxigênicos, compostos de amônio quaternário, entre outros biocidas).

- **Desinfetantes**: produto utilizado para diminuir o número de microrganismos viáveis ou a carga biológica de uma superfície ou produto.



## Exemplificando

Conheça alguns exemplos de biocidas utilizados no quadro 4.3 de Brooks, Carroll, Butel, Morse e Mietzner (2012, p. 59). Veja também a lista de desinfetantes normalmente utilizados em hospitais em Burton e Engelkirk (2005, p. 251).

Especialmente quando se fala de ambiente hospitalar ou laboratorial, a utilização dos equipamentos de proteção individual (EPIs), como luvas, máscaras, protetores para olhos, protetores faciais, jalecos, sapatos fechados, entre outros, se faz essencial. Além disso, no caso da manipulação de bactérias patogênicas, é importante a utilização de ambientes controlados, como câmaras biológicas, para garantir que esses agentes não vão se espalhar no ambiente.

Outra forma de prevenção é a imunização, ou seja, a vacinação contra doenças bacterianas. Nesse contexto, temos três formas de vacinação:

- **Imunidade ativa:** é obtida por meio do uso de vacinas preparadas a partir de bactérias mortas, atenuadas ou de seus produtos (polissacarídeos capsulares, exotoxinas inativadas etc.).

- **Imunidade passiva:** é conferida por meio da administração do anticorpo pré-formado (antitoxinas).

- **Imunidade ativa-passiva:** é a combinação da administração da vacina e do anticorpo, propiciando uma proteção imediata e duradoura.



## Pesquise mais

É sabido que, no Brasil, existe um calendário nacional de vacinação. Saiba mais no site do SUS. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/acoes-e-programas/vacinacao/calendario-nacional-de-vacinacao>>. Acesso em: 14 set. 2017.

Outra forma de controle é o tratamento da **água**, do **esgoto** e o **controle da população de animais**, reservatórios de doenças. Trata-se de uma necessidade básica que é de responsabilidade da administração pública, mas, como é sabido, não está acessível a toda a população humana.

Como prevenção, mas principalmente quando a doença já se instalou, os agentes empregados no controle das infecções são **os agentes microbianos** que vão atuar em diferentes vias, tais como toxicidade seletiva, lesão da membrana celular, inibição da síntese de parede celular, inibição da síntese de proteínas, inibição da atividade enzimática ou inibição da síntese de ácido nucleico (RNA ou DNA).

No caso das bactérias, esses agentes são especificamente os antibióticos ou agentes antibacterianos. Quando um antibiótico é capaz de destruir apenas um grupo de bactérias específicas, ele é chamado de **antibiótico de estreito espectro**. Já os **antibióticos de largo** ou **amplo espectro** são capazes de destruir tanto bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas, por exemplo.



### Assimile

Você poderá relacionar o mecanismo de ação dos principais agentes antibacterianos estudando a tabela 9.1 em Burton e Engelkirk (2005, p. 182).

Saiba mais sobre esse mecanismo no site ABC da Medicina. Disponível em: <<http://www.abcdamedicina.com.br/antibacterianos-classes-de-remedios-e-mecanismos-de-acao.html>>. Acesso em: 26 set. 2017.

No site da Anvisa você também encontrará informações importantes sobre os principais agentes antimicrobianos. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede\\_rm/cursos/rm\\_controle/opas\\_web/modulo1/antimicrobianos.htm](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo1/antimicrobianos.htm)>. Acesso em: 26 set. 2017.

### 1.2.3 Relação parasito-hospedeiro e mecanismos de resistência microbiana

Conforme já discutimos anteriormente, na relação parasita-hospedeiro os agentes microbianos vivem em associação permanente com os hospedeiros e às suas custas. Quando esses agentes são capazes de causar uma doença, são chamados **patogênicos**. Assim, a **patogenicidade** de um agente está relacionada com a sua habilidade em causar infecção, por meio de seus mecanismos estruturais ou bioquímicos. Por sua vez, a **virulência** determina o grau de patogenicidade de um microrganismo.

No estabelecimento da relação parasito-hospedeiro, além da virulência, determinada pelo agente, outro fator determinante é a resistência do hospedeiro. Nesse sentido, as condições fisiológicas do hospedeiro, bem como a integridade de suas barreiras físicas e imunológicas, vão contribuir ou dificultar o estabelecimento da infecção e, eventualmente, da doença.

Muitas vezes, com o passar do tempo, os microrganismos podem apresentar resistência aos agentes antimicrobianos. Assim, mesmo quando são utilizados antibióticos ou outros compostos antimicrobianos, determinados microrganismos possuem estratégias que permitem sua sobrevivência e multiplicação. Essa característica pode ser adquirida por meio do surgimento de mutações que levam ao desenvolvimento de **mecanismos de resistência** e também por meio do **uso incorreto de medicamentos**, que acabam por eliminar os microrganismos mais sensíveis e selecionar os mais resistentes. Estes últimos, por sua vez, ao acometer novamente o hospedeiro, não serão passíveis de tratamento com a substância já empregada. No caso das bactérias, além das mutações, a resistência às drogas pode também ser conferida pela aquisição de um plasmídeo de resistência ou de um transposon (sequência de DNA que pode se mover de uma região para outra dentro do genoma ou de uma porção para outra dentro de uma célula). Assim, a bactéria adquire genes que permitem a interferência no mecanismo de ação do antibiótico.

Os mecanismos pelos quais os microrganismos exibem resistência aos fármacos são:

- Produção de enzimas que destroem o fármaco ativo.
- Modificação da sua permeabilidade ao fármaco.
- Desenvolvimento de um alvo estrutural alterado para o fármaco.
- Desenvolvimento de uma via metabólica alterada que omite a reação inibida pelo fármaco.
- Elaboração de uma enzima alterada que ainda desempenha sua função e é pouco ou nada afetada pelo fármaco.

A resistência microbiana pode apresentar consequências

desastrosas, como o aumento da morbidade, mortalidade e internação hospitalar, prolongamento das doenças, perda de produtividade, aumento dos custos e dos riscos de complicações. Quem nunca ouviu falar das superbactérias?

Por isso, esse tema tornou-se questão de saúde pública, pois trata-se de uma ameaça emergente no tratamento de doenças infecciosas por microrganismos multirresistentes. São exemplos a resistência do *Staphylococcus aureus* à meticiclina (MRSA) e a resistência do *Enterococcus ssp* à vancomicina.



### Pesquise mais

Aprofunde seus conhecimentos sobre resistência bacteriana lendo o capítulo 11 de Levinson e Jawetz (2005). Você vai gostar de estudar também o capítulo 28 de Brookset al. (2012). Para completar seu estudo, leia também o capítulo 9 de Burton e Engelkirk (2005).

## 1.2. 4. Principais doenças infecciosas relacionadas à saúde humana

No Brasil, as principais doenças causadas por bactérias são a pneumonia, o tétano, a cólera e a hanseníase. As principais doenças virais são a dengue, a hepatite, o sarampo e, assim como no mundo todo, a aids. Já a candidíase representa uma das doenças fúngicas mais comuns.

Considerando os três principais grupos de microrganismos abordados nesta disciplina – bactérias, vírus e fungos – resumizamos no quadro a seguir as principais doenças infecciosas do ser humano.

Quadro 1.3 | Principais doenças infecciosas do ser humano

Doença	Agente etiológico	Principais sintomas	Transmissão
Antraz	<i>Bacillus anthracis</i>	Acometimento dos pulmões (letal)	Entrada dos endósporos através da pele ou inalação
Hanseníase	<i>Mycobacterium leprae</i>	Nódulos e lesões cutâneas	Contato direto de lesões cutâneas ou secreções nasais
Otite	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e outros	Coceira, dor, secreção fétida, edema	Piscinas contaminadas, objetos inseridos no canal auditivo

Conjuntivite	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Irritação e vermelhidão da conjuntiva, edemas das pálpebras, secreção mucopurulenta	Contato com secreções oculares e respiratórias
Difteria	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Dor de garganta, linfonodos cervicais inchados, amigdalite	Goticulas transmitidas pelo ar e contato direto
Tuberculose	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Febre, sudorese noturna, tosse, dor torácica, perda de peso	Goticulas transportadas pelo ar
Cólera	<i>Vibrio colerae</i>	Diarreia, vômito, rápida desidratação, insuficiência renal	Via fecal-oral, contato com vômito, ingestão de água ou alimentos contaminados
Gonorreia	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Exantema, faringite, proctite, vulvovaginite, uretrite	Contato direto mucosa-mucosa
Sífilis	<i>Treponema pallidum</i>	Cancro, exantema cutâneo, lesão do SNC, sistema cardiovascular	Contato direto com lesões, secreções corpóreas (mucosa, sangue, sêmen)
Pneumonia	Bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, micoplasma, vírus, fungos ou protozoários	Febre, tosse, dor torácica, dispneia	Inalação de gotículas contaminadas, contato oral direto, inalação de esporos de leveduras e fungos
Catapora	Vírus varicela-zoster	Febre, exantema cutâneo	Contato direto, gotículas ou dispersão aérea de fluidos
Rubéola	Vírus da rubéola	Febre, exantema rosado	Dispersão de gotículas de secreções nasofaríngeas
Sarampo	Vírus do sarampo	Febre, conjuntivite, tosse, manchas vermelhas	Dispersão de gotículas, contato direto com secreções nasais
Variola	Vírus da variola	Febre, cefaleia, dor nas costas, exantema cutâneo	Contato direto e secreções orofaríngeas

Verrugas	Papiloma vírus humano (HPV)	Lesões da pele e mucosas	Contato direto
Influenza, gripe	Vírus influenza	Febre, calafrios, cefaleia, dores generalizadas	Disseminação aérea e contato direto
Hepatite	Diversos tipos virais	Inflamação do fígado	Fecal-oral, contato sexual, transfusão de sangue etc. (depende do tipo viral)
Caxumba	Vírus da caxumba	Febre, inchaço e hipersensibilidade das glândulas salivares	Contato direto com gotículas de saliva
Aids	HIV	Febre, exantema, dor de cabeça, ocorrência de doenças oportunistas	Contato sexual, compartilhamento de agulhas, transfusão sanguínea, transferência transplacentária
Criptococose	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Micose profunda, meningite, infecção pulmonar	Inalação de leveduras (ninhos e excrementos de aves como pombos)

Fonte: elaborado pelo autor.

## Sem medo de errar

Pelo jeito, nossa colega Ana Carolina não tem cuidado de sua saúde e, o pior, não fez o tratamento com antibiótico de forma adequada. Assim, com o recorrente quadro de infecção urinária bacteriana, o tratamento não vem surtindo efeito.

Ana Carolina pode estar vivenciando a consequência de um típico caso de resistência bacteriana. No início de um primeiro tratamento, a população bacteriana geralmente é heterogênea, ou seja, existem bactérias com diferentes características, mas que, de maneira geral, são susceptíveis ao tratamento com um determinado fármaco. No entanto, se o tratamento não é realizado da maneira correta, apenas as bactérias mais sensíveis são erradicadas. Isso significa que as bactérias mais resistentes que seriam eliminadas com a dose adequada do fármaco, com a baixa concentração do ativo, não são eliminadas totalmente. Assim, numa reinfecção, o número de bactérias resistentes é muito maior, e, causando um cenário infeccioso mais grave, não é susceptível à ação do fármaco

já utilizado anteriormente. É um conceito muito semelhante à seleção natural, ou seja, apenas as bactérias “mais aptas” – nesse caso, mais resistentes – sobrevivem.

As bactérias podem ser naturalmente resistentes a um fármaco por possuírem, por exemplo, parede ou membrana celular impermeável ao fármaco. É a chamada **resistência intrínseca**. Quando, inicialmente, uma bactéria é sensível a uma substância e torna-se resistente a esse fármaco, temos um caso de **resistência adquirida**. Essa aquisição pode se dar por mutação cromossômica, aquisição (por conjugação, transdução ou transformação) de um gene capaz de produzir algo que inativa o fármaco, entre outros processos.

Nesse cenário, uma alternativa para que Ana Carolina consiga um tratamento eficaz para sua doença é a utilização de um antibiótico diferente do utilizado anteriormente, uma vez que o mecanismo de ação do fármaco já utilizado não vem sendo eficiente. Assim, um medicamento diferente pode ser capaz de atingir de forma eficaz a bactéria patogênica. Nesse contexto, o médico de Ana Carolina pode prescrever também uma combinação de antibióticos de ação sinérgica, ou seja, que têm mecanismos de ação complementares e cooperativos.

## Avançando na prática

### No lugar certo, na hora certa

#### Descrição da situação-problema

Intrigada com sua infecção, Ana Carolina quer saber mais a respeito. Ela já sabe que a bactéria que causou a infecção é comumente encontrada em seu intestino sem causar nenhum prejuízo. Dessa forma, como pode uma bactéria de sua flora normal causar uma doença tão chata – e potencialmente perigosa – como a infecção urinária?

#### Resolução da situação-problema

Para auxiliar Ana Carolina em seu questionamento científico, lembre-se do conceito de microbiota residente. Esse grupo de microrganismos (composto principalmente por bactérias, fungos,

protozoários e vírus) apresenta-se numa quantidade relativamente estável em organismos saudáveis e são essenciais em processos digestivos, degradação de toxinas, maturação do sistema imunológico, proteção contra a colonização por microrganismos patogênicos, entre outros benefícios. Pense também sobre a relação do potencial patogênico do microrganismo e o tecido relacionado. Essa relação é importante, pois num determinado tipo de mucosa aquele microrganismo terá um papel benéfico para a fisiologia (trato intestinal, por exemplo), enquanto, em outro tecido ou mucosa, esse mesmo microrganismo poderá desempenhar sua ação patogênica (trato urinário, por exemplo).

## Faça valer a pena

**1.** Diversos relatos históricos nos mostram o grande impacto que um organismo microscópico pode causar em uma população. Ao longo de nossa era, milhões de pessoas sucumbiram a grandes epidemias, especialmente na Europa e Ásia.

Selecione a alternativa correta que versa sobre o termo epidemiologia:

- a) Estudo dos fatores que denotam a frequência, a distribuição e os determinantes das doenças nas populações humanas.
- b) Estudo da fração da população que contrai uma determinada doença em um determinado período de tempo.
- c) Estudo do tempo durante o qual uma doença acometeu grande parte de uma população.
- d) Estudo de doenças que ocorrem de forma ocasional numa determinada área e são mantidas sob controle.
- e) Estudo de doenças que ocorrem apenas numa determinada área geográfica.

**2.** Diversos procedimentos são aplicados no controle de microrganismos, desde os mais simples, como lavar as mãos, até os mais complexos realizados em ambientes como laboratórios e hospitais. Assim, tanto em ambientes domésticos como hospitalares, é possível fazer uso de agentes antimicrobianos ou processos de esterilização.

Relacione corretamente as duas colunas a seguir:

- |                     |  |
|---------------------|--|
| I- Biocida          | A- Livra a superfície de organismos viáveis e esporos. |
| II- Bacteriostático | B- Possui capacidade de matar bactérias.               |
| III- Bactericida    | C- Apenas inibe a multiplicação de bactérias.          |
| IV- Esterilização   | D- Geralmente apresenta largo espectro de ação.        |

Selecione a alternativa que contém a combinação correta entre as colunas:

- a) I-D, II-C, III-B, IV-A.
- b) I-C, II-B, III-A, IV-D.
- c) I-B, II-A, III-D, IV-C.
- d) I-A, II-B, III-C, IV-D.
- e) I-A, II-C, III-B, IV-D.

**3.** Analise os itens a seguir:

I- Produção de enzimas que degradam o fármaco ativo.

II- Mudança na sua permeabilidade ao fármaco.

III- Criação de um alvo estrutural alterado para o fármaco.

IV- Incorporação do fármaco ao seu DNA.

São mecanismos pelos quais os microrganismos exibem resistência aos fármacos:

- a) I, II e III.
- b) I e II.
- c) II, III e IV.
- d) Apenas I.
- e) I, II, III e IV.

## Seção 1.3

### Características e replicação dos vírus

#### Diálogo aberto

Assim como a obtenção de importantes resultados advindos dos complexos estudos acadêmicos realizados em uma universidade, os estudantes e os pesquisadores também têm o papel de dividir o conhecimento adquirido com a sociedade. Por isso, com o objetivo de aproximar as pessoas não acadêmicas do universo científico, os alunos da turma de Ana Carolina resolveram organizar uma feira aberta à população para apresentar a importância de diversos estudos realizados na universidade da cidade. Como não poderia deixar de ser, Ana Carolina decidiu apresentar um importante tema dentro da microbiologia: os vírus de cânceres humanos. Dentro desse contexto, um dos assuntos mais discutidos atualmente pela sociedade é a vacinação contra o papiloma vírus humano (HPV) de crianças e adolescentes. Talvez por isso, o estande de Ana Carolina tenha chamado tanta atenção das pessoas. Dessa maneira, de que forma Ana Carolina deve esclarecer à população a importância de se tomar a vacina contra esse vírus, quais as características desse patógeno e quais as consequências dessa doença para o organismo?

Após auxiliar nossa colega estudante Ana Carolina, você também pode exercitar os seus novos conhecimentos adquiridos nesta unidade e elaborar uma tabela com os principais aspectos relacionados às bactérias e sua influência.

#### Não pode faltar

Qual é a definição de vida para você? Sabia que a maioria dos cientistas não considera os vírus como organismos vivos? Na verdade, eles são considerados seres acelulares sem autonomia replicativa. Assim, como não são capazes de se multiplicar sem utilizar a maquinaria fisiológica de uma célula hospedeira, eles não são considerados “vivos”. Por isso, muitas vezes usam-se termos

como agentes infecciosos ou partículas infecciosas para descrever os vírus, e não se usa o termo microrganismo.

A origem certa desses agentes ainda é um mistério. Algumas teorias indicam que os vírus teriam derivado de fragmentos degenerados de células já existentes, ou seja, partes de DNA ou RNA dos ácidos nucleicos de células hospedeiras teriam adquirido capacidade de replicação autônoma e evoluíram de forma independente.



### Assimile

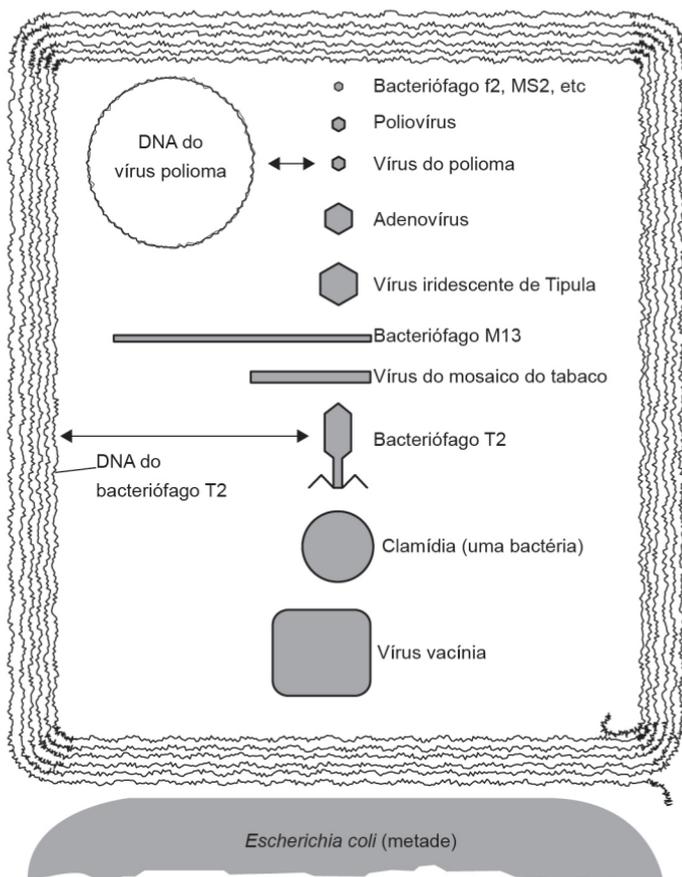
Os vírus possuem cinco propriedades principais que os distinguem de células vivas:

- Possuem DNA ou RNA, nunca ambos.
- São incapazes de se multiplicar por si só.
- Não se dividem por divisão binária, mitose ou meiose.
- Não possuem genes e enzimas necessárias para produção de energia.
- Dependem dos ribossomos, enzimas e metabólitos da célula hospedeira para produzir proteínas e ácidos nucleicos.

### 1.3.1 Características gerais dos vírus

Conhecidos como os menores agentes infecciosos existentes, o tamanho dos vírus varia de 20 nm a 300 nm. Para que você compreenda essa escala de grandeza, basta imaginar que essa faixa de tamanho está próxima do tamanho das maiores proteínas e das menores células existentes.

Figura 1.9 | Tamanhos comparativos dos vírus, seus ácidos nucleicos e bactérias

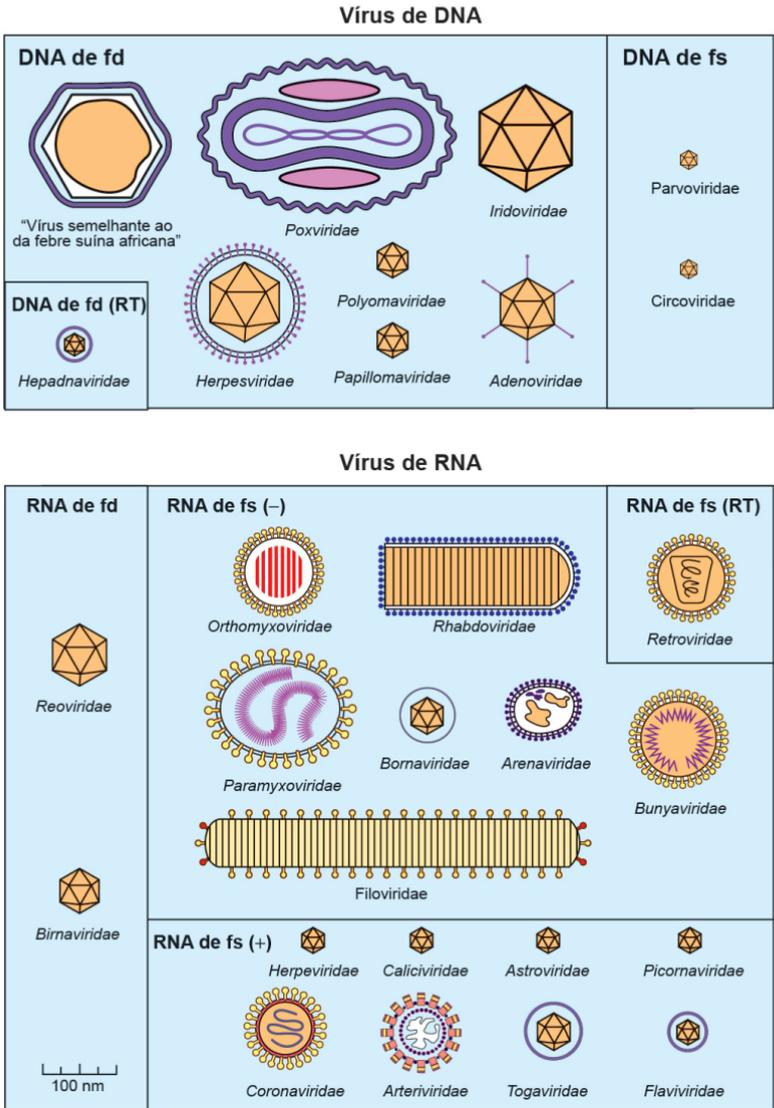


Fonte: Burton e Engelkirk (2005, p. 65).

O material genético localizado no interior da partícula viral pode ser DNA, fita simples ou dupla, ou RNA, fita simples ou dupla. Ambos podem ter formato circular ou linear; no entanto, o DNA é sempre uma molécula única, enquanto o RNA pode também apresentar-se em vários segmentos lineares. A maioria dos vírus é haploide, com exceção da família dos retrovírus, que apresentam duas cópias de seu genoma RNA.

O formato viral é variável e complexo e é dado por estruturas proteicas de simetria geométrica, os **capsômeros**, que se unem formando o **capsídeo**, ou seja, o invólucro proteico viral. Podemos observar os diversos formatos virais ilustrados na figura a seguir.

Figura 1.10 | Formas e vírus de importância médica



Fonte: Burton e Engelkirk (2005, p. 65).

O material genético viral circundado pelo capsídeo – delimitado ou não por membrana lipídica – forma a unidade infecciosa completa denominada **virion**. Os vírus que apresentam envoltório lipídico são chamados de **envelopados** e os que não possuem essa estrutura são os **vírus nus**.

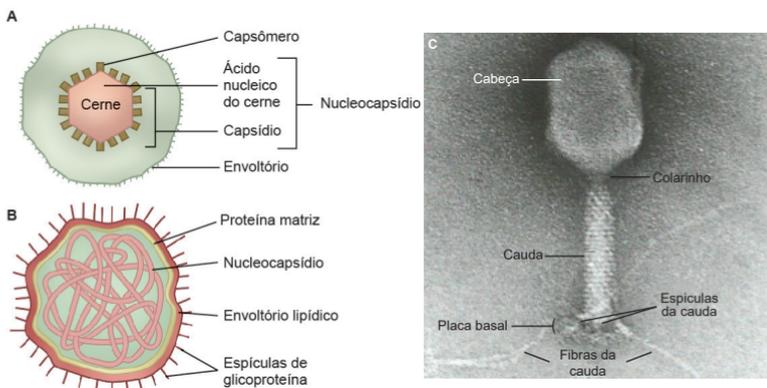
Os capsídeos apresentam duas formas de simetria:

- Icosaédrica: capsômeros arranjados em triângulos que formam uma figura simétrica (icosaedro).
- Helicoidal: capsômeros organizados em estrutura helicoidal ou com forma de bastão, podendo ser rígida ou flexível.



## Exemplificando

Figura 1.11 | Simetria viral: A) vírus com simetria icosaédrica, B) vírus com simetria helicoidal, C) micrografia eletrônica de um Bacteriófago T4 de *Escherichia coli* (os componentes da cauda viral participam da adesão do virion à célula hospedeira e injeção do ácido nucleico)



Fonte: A e B) Brooks et al. (2012, p. 373); C) Madigan et al. (2010, p. 255).

Também existem os **vírus complexos**, ou seja, aqueles que apresentam simetrias distintas como, por exemplo, o **bacteriófago T4**, um vírus bacteriano de aparência muito conhecida (Figura 1.10 C). Esse agente apresenta cabeça icosaédrica e cauda helicoidal complexa.

Embora os vírus sejam muito pequenos, existem ainda agentes infecciosos menores e menos complexos. Os **viroides** constituem pequenos fragmentos de RNA de fita simples que têm capacidade de interferir no metabolismo de células vegetais e até causar sua morte. Há também os **prions**, que são pequenas proteínas infecciosas capazes de causar doenças neurológicas como a famosa vaca louca.

### 1.3.2 Ciclo de replicação viral

Os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios, ou seja, para que possam se reproduzir eles obrigatoriamente precisam infectar uma célula hospedeira e fazer com que ela trabalhe em prol da replicação viral. Esse processo é dividido em cinco etapas:

1- **Ligação** (adsorção) do virion a uma célula hospedeira. Nessa etapa, o vírus interage com um receptor de membrana específico. Isso significa que cada vírus infecta uma ou algumas células específicas, o que determina o espectro do hospedeiro do vírus.

2- **Penetração** do virion ou do ácido nucléico na célula e **desnudamento**. Assim, as partículas virais penetram a célula através de endocitose ou vesícula pinocítica. Dessa forma, o desnudamento refere-se à separação do material genético viral dos outros componentes estruturais do virion, como o capsídeo e o envelope.

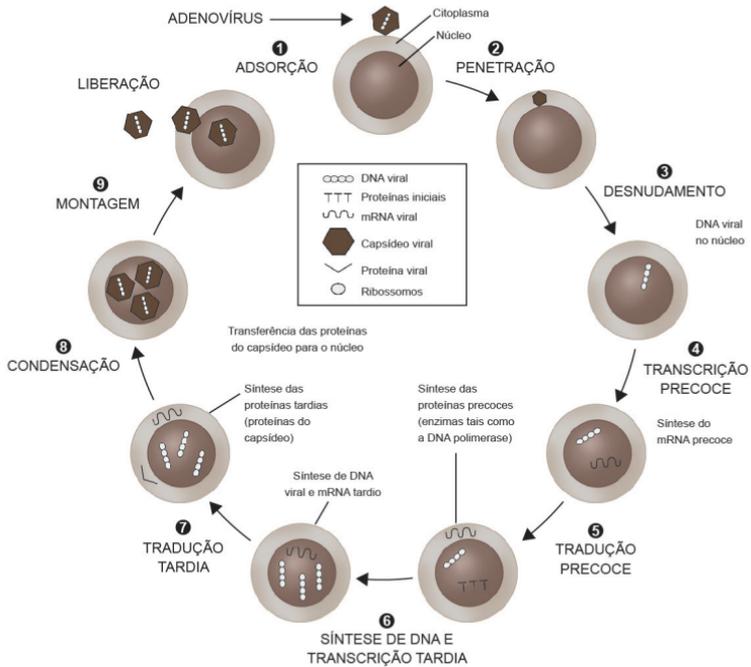
3- **Síntese** de ácidos nucleicos e proteínas virais pela maquinaria celular de acordo com o "comando" viral. Uma vez no interior celular, o genoma viral incorporado ao genoma celular interfere nos eventos de expressão gênica e proteica fazendo com que a célula trabalhe na produção de novos elementos necessários para a construção de mais partículas virais, ou seja, material genético e proteína viral.

4- **Montagem** dos capsídeos e componentes de membrana e compactação do genoma viral em novos virions completos.

5- **Liberação** dos virions maduros pela célula. Esse processo é especialmente importante para vírus envelopados, no qual, através do brotamento que ocorre na membrana citoplasmática, os vírus completos são então liberados, envoltos com uma camada de membrana citoplasmática. Vírus nus, em geral, são acumulados nas células infectadas as quais sofrem processo de lise e liberação das partículas virais.



Figura 1.12 | Ciclo replicativo viral



Dessa forma, quando, ao final do ciclo replicativo, o vírus traz como consequência a lise celular, nós temos o **ciclo lítico**. No entanto, alguns grupos virais, como bacteriófagos, atuam de forma alternativa denominada **ciclo lisogênico**, em que o ácido nucleico viral incorpora-se ao cromossomo celular e funciona de forma integrada. Assim, não há produção e partículas virais, no entanto, ocorre a síntese de diversas exotoxinas bacterianas codificadas por genes do bacteriófago integrado.

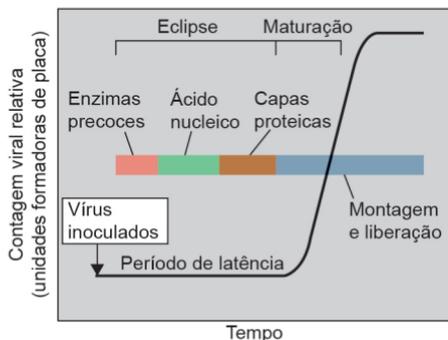


## Refleta

Nós já tratamos do termo virulência em seção anterior para falar sobre a capacidade de bactérias de causar doenças. Agora que você já sabe sobre a incorporação do material genético viral ao DNA bacteriano, você consegue explicar a escolha do termo virulência mesmo se tratando de uma característica bacteriana?

A replicação viral apresenta uma curva característica que ilustra a quantidade de vírus produzida em função do tempo.

Figura 1.13 | Curva de replicação viral



Fonte: Madigan et al. (2010, p. 259).

Na primeira etapa, a partícula viral não é mais encontrada, pois foi desmontada no processo de penetração e desnudamento. No entanto, o ácido nucleico está funcional e se acumula no interior celular. Esse é o chamado **período de eclipse**, que termina quando o vírus volta a ser detectado. Assim, o **período de latência** compreende o tempo entre o início da infecção até o aparecimento do vírus fora da célula.



Pesquise mais

Aprofunde seus conhecimentos sobre a replicação viral estudando o capítulo 10 de Madigan et al. (2010).

Para entender a replicação viral do HIV, um dos vírus mais conhecidos, acesse:

REPLICAÇÃO do Vírus HIV. 13 maio 2017. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=ZQ9amlhyZ48&t=156s>>. Acesso em: 29 set. 2017.

Outro vídeo no mesmo contexto:

COMO o HIV infecta uma célula e se replica. 12 fev. 2013. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=fvhjiGMcDb8>>. Acesso em: 29 set. 2017.

### 1.3.3 Interação dos vírus com seus hospedeiros

Compreendidos os processos que ocorrem a nível celular após a infecção viral, é preciso compreender quais as consequências globais desses eventos para o hospedeiro. Assim, passado o processo da infecção viral e o ciclo replicativo, a resposta celular gerada poderá apresentar desde efeitos não aparentes, como efeitos citopatológicos culminando na morte celular, até uma hiperplasia ou mesmo um câncer, dependendo do tipo de vírus em questão.

Quando a infecção viral não produz sintomas no hospedeiro, ela é considerada **subclínica**. Na verdade, a maioria das infecções virais não evolui efetivamente para uma doença. No entanto, a presença de sinais e sintomas caracteriza a infecção por um vírus patogênico e, de acordo com o tipo de cepa e as condições do hospedeiro, pode apresentar-se com diferentes virulências. Ou seja, a evolução de uma doença específica será determinada pelos fatores virais e do hospedeiro, e será influenciada pela genética de ambos. É importante saber também que uma mesma doença pode ser causada por uma variedade de vírus, assim como um mesmo vírus pode acarretar diferentes doenças.

Conforme citado acima, existe uma “predileção” do vírus para infectar certos tecidos do hospedeiro e não outros, é o chamado tropismo viral. Ele é determinado tanto pela presença de receptores específicos presentes na superfície de determinadas células (susceptibilidade), quanto por constituintes intracelulares essenciais para a síntese dos componentes virais (permissividade).

A infecção viral tem sucesso quando:

- o inóculo viral é suficiente para iniciar a infecção;
- as células no sítio da infecção são susceptíveis e permissivas ao vírus (tropismo);
- os sistemas de defesa do hospedeiro estão ausentes ou são ineficientes.

Assim, para que se complete o ciclo de transmissão viral, além da entrada do vírus no hospedeiro, da replicação e da sua liberação, é preciso que o vírus se dissemine no organismo e, a partir deste, vá infectar outro hospedeiro.

### 1.3.4 Caracterização dos principais grupos de vírus para a saúde humana e para o meio ambiente

Existe uma ampla gama de vírus com importância para a saúde humana. Eles estão divididos em vírus de **DNA e vírus de RNA**. Os vírus de DNA apresentam-se em três famílias de **vírus nus icosaédricos** – parvovírus, papovavírus e adenovírus – e três famílias de **vírus envelopados** – hepadnavírus, herpesvírus e poxvírus. Dentre eles, podemos destacar o grupo do adenovírus, vírus icosaédrico, de DNA, que causa faringite e doenças das vias respiratórias superiores e inferiores. Já o grupo dos papilomavírus compreende o vírus do papiloma humano como HPV, que causa desde lesões leves até um dos cânceres mais graves em mulheres, o câncer do colo do útero. Um dos vírus mais comuns é o herpesvírus, um vírus envelopado de capsídeo icosaédrico, que causa herpes simples tipo 1 e 2, mononucleose, entre outras doenças.

A maioria dos vírus que acometem vertebrados apresenta o ácido nucléico do tipo RNA, o que faz sentido visto que esse tipo de molécula apresenta alta taxa mutagênica. Esse fator, somado à evolução, contribuiu para a geração de uma grande diversidade viral. Assim, como são menos específicos que vírus de DNA, eles são capazes de infectar uma variedade maior de espécies animais. Os vírus de RNA apresentam-se, portanto, mais numerosos e estão divididos em famílias de vírus icosaédricos nus, icosaédricos envelopados ou helicoidais envelopados. Dentre eles, podemos destacar a família dos flavivírus, que compreende os vírus da febre amarela, vírus da dengue e o vírus da hepatite C. Outra família de importância médica é a retrovírus, grupo do vírus HIV. Os vírus do sarampo e da caxumba são da família paramixovírus, enquanto o vírus da raiva pertence à família rabdovírus. Por último, não podemos deixar de citar a família ortomixovírus, que contém o vírus influenza, causador da gripe.



#### Pesquise mais

Existem muitas famílias virais importantes para o profissional da saúde. Portanto, para saber mais sobre esses e outros vários aspectos em virologia, inclusive mais detalhes sobre os diferentes grupos de vírus supracitados, acesse o material gratuito da Fundação Oswaldo Cruz:

STEPHENS, P. R. et al. D. *Virologia*. In: MOLINARO, E.; CAPUTO, L.; AMENDOEIRA, R. (Org.). **Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde**. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2009. v. 4. Capítulo 2. Disponível em: <<http://www.epsjv.fiocruz.br/sites/default/files/cap2.pdf>>. Acesso em: 29 set. 2017.

Você também vai gostar de ler o capítulo 31 e a Parte VIII de Levinson e Jawetz (2005).

Quando pensamos em vírus e o meio ambiente, existem aspectos os quais nós podemos discutir sob diferentes óticas. Podemos dizer que os vírus são um dos grandes responsáveis pela variabilidade genética dos seres vivos, uma vez que, como parte de sua sobrevivência e replicação, o genoma viral é incorporado ao genoma da célula hospedeira. Dependendo do tipo de ciclo viral, como vimos anteriormente, as células continuam vivas e podem se reproduzir, amplificando outras unidades celulares contendo o genoma invasor. Além disso, também relacionado à evolução, ao longo de diversas eras, populações de animais e plantas acometidas por doenças microbianas – inclusive por vírus – superaram ou sucumbiram às pressões da seleção natural. Assim, os vírus exerceram – e exercem – uma grande importância no equilíbrio populacional.

Para a agropecuária, ainda que menos estudados, existem os grupos virais que infectam plantas e podem causar grandes prejuízos para a agricultura moderna. Por outro lado, assim como as bactérias, genomas virais também podem ser usados no melhoramento de plantas, o que os coloca numa posição benéfica para a economia.

De acordo com o famoso médico Dráuzio Varella (2006), a grande biodiversidade viral, sua capacidade de infectar os mais variados grupos de organismos, a velocidade de sua replicação no interior das células, assim como as mutações sofridas, tornam os vírus a maior fonte de inovação genética em nosso planeta. Dessa forma, eles não devem ser considerados apenas como vilões causadores de prejuízos. Os vírus são, portanto, importantes para a diversidade genética e equilíbrio do meio ambiente.

Os vírus são fonte do desenvolvimento de vários tipos de tumores humanos (pelo menos de 15% a 20%), inclusive um dos de maior importância no mundo: o câncer do colo do útero. Dos casos de câncer de colo do útero, 99% estão ligados à infecção por HPV. Além disso, o HPV também está ligado a 80% dos casos de câncer anal, ou seja, que acomete ambos os sexos.

Aplicada como uma boa aluna não poderia deixar de ser, Ana Carolina estudou muito sobre o HPV para que pudesse explicar à população as características desses vírus. Dessa maneira, frente a tantas perguntas, a aluna decidiu expor de forma breve os principais aspectos relacionados ao vírus e à doença.

Ela enfatizou que o papilomavírus humano, mais conhecido como HPV, infecta cerca de 75% dos indivíduos sexualmente ativos e causa desde verrugas genitais até cânceres vulvar, vaginal e cervical em mulheres infectadas. É um vírus de simetria icosaédrica, com 55 nm de diâmetro, e é composto basicamente por DNA (10%) e proteína viral (90%). Apresenta DNA de fita dupla circular e não apresenta envelope. Tem como característica metabólica o estímulo à síntese de DNA, e suas oncoproteínas virais são capazes de interagir com proteínas supressoras de tumores celulares, ou seja, neutralizam a atuação do sistema de defesa contra a formação de tumores. Um aspecto importante desse vírus é a sua estrita variedade de hospedeiros e tropismo tissular, ou seja, acomete quase que exclusivamente humanos (mulheres) e preferencialmente a área genital.

Para embasar o seu argumento de importância da prevenção, Ana Carolina apresentou também alguns dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA). De acordo com o INCA, em 2013, mais de 5 mil mulheres morreram em decorrência do câncer de colo do útero e, em 2016, mais de 16 mil foram diagnosticadas. Assim, as melhores formas de prevenção são: uso de preservativos, realização do exame papanicolau anualmente e a vacinação contra o vírus HPV. Infelizmente não há vacina para todas as dezenas de variações de vírus HPV, sendo dirigida, entretanto, contra os tipos 6, 11, 16 e 18, a vacinação abrange as linhagens que são responsáveis por 70% dos cânceres cervicais e 90% das verrugas genitais.

Por isso, a vacinação de crianças e adolescentes que ainda não iniciaram a atividade sexual tem uma grande importância no controle da transmissão do vírus HPV e, conseqüentemente, na redução do número de casos de câncer de colo do útero relacionados à presença do vírus. Ela explicou que a vacinação dos meninos também é importante, pois mesmo que na grande maioria das vezes a infecção por HPV seja assintomática nesse grupo, eles são portadores e vetores de transmissão do vírus. Além disso, Ana Carolina também enfatizou que, mesmo as mulheres que já se apresentaram infectadas por um ou mais tipos de HPV, podem se vacinar a fim de não serem acometidas por outros tipos. Dessa forma, Ana Carolina pôde atuar de forma ativa como aspirante a profissional da saúde, esclarecendo pontos importantes à população.

## Avançando na prática

### Quem vê raça não vê infecção

#### Descrição da situação-problema

Independentemente da raça, o rabdovírus, mais conhecido como vírus da raiva, infecta não apenas cães e gatos, mas também outros grupos de mamíferos como raposas, lobos, gambás, morcegos e até mesmo humanos. Como consequência do acometimento do sistema nervoso central, os animais doentes apresentam comportamento agressivo, o que dá nome a essa doença. Pensando no ciclo de replicação e transmissão viral, qual a importância dessa mudança comportamental?

#### Resolução da situação-problema

A raiva se manifesta como uma aguda infecção do sistema nervoso central e é quase sempre fatal. Num animal contaminado, além de estar presente no sistema nervoso, o vírus pode também ser encontrado em outras partes do organismo, como na saliva, na urina, na linfa, no leite e no sangue. A fim de aumentar a probabilidade de transmissão, algumas infecções por vírus modificam o comportamento dos seus hospedeiros. É o caso do vírus da raiva, que torna os mamíferos infectados mais agressivos. No que diz respeito à transmissão viral, esse fato traz uma grande

vantagem para o agente viral, uma vez que aumenta as chances de transmissão por meio da mordida de hospedeiro para hospedeiro em potencial. Dessa maneira, estando presente na saliva, o vírus pode atingir a corrente sanguínea do animal mordido, contaminando-o.

## Faça valer a pena

**1.** A grande maioria da comunidade científica não considera os vírus como “seres vivos”. Eles são definidos como seres acelulares parasitas intracelulares obrigatórios e os termos mais comumente utilizados para descrevê-los são agentes infecciosos ou partículas infecciosas.

Qual a principal razão para não considerar os vírus como seres vivos? Selecione a alternativa correta.

- a) Não apresentam mitocôndrias.
- b) Não possuem ácidos nucléicos.
- c) Não possuem envoltório lipídico.
- d) Não apresentam autonomia replicativa.
- e) São muito menores que a menor célula existente.

**2.** Os vírus compreendem o grupo com os menores agentes infecciosos existentes, sendo que o seu tamanho – de 20 nm a 300 nm – é compatível com o tamanho das maiores proteínas ou das menores células existentes.

Menores que os virions (partículas virais completas), podemos citar ainda dois agentes infecciosos menos complexos. Quais são eles?

- a) Vírus nus e vírus envelopados.
- b) Capsômeros e capsídeos.
- c) Vírus icosaédricos e helicoidais.
- d) Vírus complexos e bacteriófagos.
- e) Viroides e príons.

**3.** Para que possa se reproduzir, os vírus precisam infectar uma célula hospedeira e fazer com que toda sua maquinaria fisiológica trabalhe em função da replicação viral. Esse processo é didaticamente dividido em cinco etapas. Quais são elas e em qual ordem ocorrem?

Selecione a alternativa correta:

- a) Ligação, penetração e desnudamento, síntese, montagem, liberação.
- b) Ligação, desmontagem, penetração, síntese, liberação.

- c) Penetração e desnudamento, ligação, síntese, montagem, liberação.
- d) Ligação, síntese, montagem, maturação, liberação.
- e) Penetração, ligação, desnudamento, montagem, liberação.

# Referências

- ANTIBACTERIANOS – Classes de Remédios e Mecanismos de Ação. **ABC da Medicina**, 24 nov. 2015. Disponível em: <<http://www.abcdamedicina.com.br/antibacterianos-classes-de-remedios-e-mecanismos-de-acao.html>>. Acesso em: 26 set. 2017.
- ANTIMICROBIANOS - principais grupos disponíveis para uso clínico. 2007. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede\\_rm/cursos/rm\\_controle/opas\\_web/modulo1/antimicrobianos.htm](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo1/antimicrobianos.htm)>. Acesso em: 26 set. 2017.
- ANTUNES, L. C. M. A microbiota humana. **Ciência Hoje**, n. 316, 15 jul. 2014. Disponível em: <[http://www.cienciahoje.org.br/revista/materia/id/856/n/a\\_microbiota\\_humana](http://www.cienciahoje.org.br/revista/materia/id/856/n/a_microbiota_humana)>. Acesso em: 26 set. 2017.
- AS GRANDES epidemias ao longo da história. **Super Interessante**, 31 ago. 2004. Disponível em: <<https://super.abril.com.br/saude/as-grandes-epidemias-ao-longo-da-historia/#>>. Acesso em: 14 set. 2017.
- BALZA, G. Brasil tem surtos de doenças e epidemias por atuar apenas de forma emergencial, diz sanitarista. **UOL Notícias**, 26 fev. 2010. Disponível em: <<https://goo.gl/jNv8Vs>>. Acesso em: 13 set. 2017.
- BROOKS, G. F. et al. **Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick e Adelberg**. 25. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.
- BURTON, G. R. W.; ENGELKIRK, P. G. **Microbiologia para as Ciências da Saúde**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- CALENDÁRIO nacional de vacinação. **Portal da Saúde**, 2017. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/acoes-e-programas/vacinacao/calendario-nacional-de-vacinacao>>. Acesso em: 14 set. 2017.
- CIENTISTAS investigam origem de bactéria pandêmica causadora do cólera. **Sociedade Brasileira de Microbiologia**, 5 dez. 2016. Disponível em: <<http://sbmicrobiologia.org.br/cientistas-investigam-origem-de-bacteria-pandemica-causadora-do-colera/>>. Acesso em: 14 set. 2017.
- COLO do útero. **INCA**, 2017. Disponível em: <[http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/colo\\_uterio](http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/colo_uterio)>. Acesso em: 29 set. 2017.
- CONNOR, S. Bactéria da Peste Negra resiste nos roedores atuais e pode causar nova pandemia. **O Globo**, 28 jan. 2014. Disponível em: <<https://oglobo.globo.com/sociedade/ciencia/bacteria-da-pestre-negra-resiste-nos-roedores-atuais-pode-causar-nova-pandemia-11425796>>. Acesso em: 14 set. 2017.
- LEVINSON, W.; JAWETZ, E. **Microbiologia médica e imunologia**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

MARINS, K. **Transferência de material genético em bactérias**. 2013. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=GxnwmPnAW-8>>. Acesso em: 16 nov. 2017.

PAIM, R. S. P.; LORENZINI, E. Estratégias para prevenção da resistência bacteriana. **Revista Cuidarte**, 2014, v. 5, n. 2, p. 757-64. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.15649/cuidarte.v5i2.88>>. Acesso em: 14 set. 2017.

VARELLA, Drauzio. Reflexões sobre a vida. **Folha de S. Paulo**, 13 maio 2006. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/fsp/ilustrad/fq1305200633.htm>>. Acesso em: 28 set. 2017.



# Mecanismos de controle microbiológico

### Convite ao estudo

Neste nosso caminho pela microbiologia, já passamos pelo mundo das bactérias e dos vírus. Agora, entraremos nesta nova unidade abrindo a porta da **micologia**, ou seja, do estudo dos fungos. Os fungos estão presentes em quase todos os lugares do planeta, vivendo na matéria orgânica, na água, no solo, ou mesmo dentro de animais e vegetais, podendo ou não parasitá-los. Atualmente são descritas mais de 80 mil espécies fúngicas, mas apenas cerca de 50 delas são ditas como causadoras de mais de 90% das infecções micológicas em humanos e em animais. E, assim como no caso das bactérias, uma grande parcela dos grupos fúngicos têm sua contribuição para a natureza como um todo, uma vez que são essenciais para a degradação e reciclagem da matéria orgânica. Além disso, esses pequenos seres são importantíssimos na indústria alimentícia e farmacêutica. Quem nunca ouviu falar da penicilina? Pois bem, esse foi o primeiro antibiótico descoberto pelo bacteriologista Alexander Fleming em 1928 e, até nos dias de hoje, é uma substância muito utilizada. Essa é só uma das grandes informações que você poderá aprender ao longo desse novo mundo.

Além disso, ao final desta unidade, você conhecerá as normas de biossegurança em laboratórios microbiológicos e saberá utilizar as técnicas aplicadas em estudos dessa área. Assim, sua formação como biólogo estará cada vez mais completa e você poderá ampliar sua visão sobre as aplicações da microbiologia.

Nesse contexto, o uso das técnicas e dos conhecimentos em microbiologia é muito amplo, tanto no aspecto acadêmico quanto no ambiente industrial. Em diversas áreas, mesmo fora da grande área biológica, qualquer campo que envolva as temidas contaminações

biológicas requer muita atenção de todos os profissionais envolvidos. Pautadas por regras, normas, leis e, principalmente, pela responsabilidade do manipulador ou pesquisador, os cuidados com a biossegurança garantem não apenas a segurança do profissional, mas também a qualidade do produto final, no caso da produção industrial. Nesse contexto, criaremos uma situação hipotética na qual o recém-formado em Ciências Biológicas João decidiu investir numa pós-graduação na área de segurança alimentícia. Por gostar muito de microbiologia aplicada à indústria, ele acredita que será muito feliz nesse campo. Assim, mesmo antes de concluir sua complementação profissional, João já está de olho em vagas de estágio em indústrias de alimentos na região onde mora. Ele está muito empolgado e ansioso pelo ingresso nessa área profissional. A sede de aprendizado desse biólogo é incessante!

Você já se perguntou como pode ser interessante o trabalho de um microbiologista e como esse profissional é importante para a nossa segurança alimentar de cada dia?

Você já se viu querendo saber mais sobre esse assunto na prática e sobre como é possível cultivar microrganismos com segurança?

Nesta unidade vamos refletir e construir juntos esse conhecimento. Na primeira seção, iniciaremos o estudo dos fungos e vamos conhecer a morfologia das células fúngicas, sua genética, reprodução e seus processos fisiológicos. Vamos também abordar os mecanismos de infecção dos fungos e dos vírus. Na Seção 2.2, trataremos das consequências das infecções de fungos e vírus, assim como os métodos de controle dessas infecções. Vamos ingressar num mundo um pouco mais aplicado, conhecendo os procedimentos e materiais utilizados nos laboratórios de microbiologia, sempre pautados pelas normas de biossegurança. Em nossa última seção, a 2.3, o assunto será a esterilização de materiais e o preparo de meios de culturas utilizados em laboratórios microbiológicos. Nesse momento, também conheceremos técnicas de inoculação de microrganismos.

Pronto para colocar a "mão na massa microbiológica"?

## Seção 2.1

### Aspectos morfofisiológicos e genéticos dos fungos

#### Diálogo aberto

João, nosso colega biólogo e pós-graduando na área de segurança alimentar está prestes a se formar. Ele está passando agora pela fase final de avaliações em seu curso e está muito preocupado com as provas. Uma avaliação em especial tem tirado seu sono: a prova prática final. Nesse teste, os alunos recebem uma amostra de alimento contaminado e, usando apenas lupa e microscópio, eles precisam identificar a qual grupo de microrganismos o contaminante em questão pertence. Além disso, após a identificação, o aluno também precisará desenhar o que viu e apontar as principais estruturas. Após semanas de estudo, chegou o grande dia, e João tem à sua frente as imagens a seguir.

Figura 2.1 | A) placa de Petri recebida contendo o microrganismo a ser avaliado; B) imagem visualizada através da lupa; C) imagem visualizada ao microscópio óptico



Fonte: A) <<http://atlasmicologia.blogspot.com.br/2011/06/aspergillus-glaucus.html>>. Acesso em: 7 out. 2017.;

B) <[https://www.agrolink.com.br/culturas/problema/aspergilose\\_2380.html](https://www.agrolink.com.br/culturas/problema/aspergilose_2380.html)>. Acesso em: 7 out. 2017.;

C) <<http://www.biomedicinapadrao.com.br/2014/06/o-que-e-galactomanana-e-qual.html>>. Acesso em: 7 out. 2017.

Como o nosso amigo João vai resolver esse teste para ser um sucesso na avaliação final? Vamos ajudá-lo?

### 2.1.1 Morfologia das células fúngicas

Os fungos são seres eucarióticos, sendo que todas as células fúngicas apresentam, pelo menos, um núcleo. Assim como outras células eucarióticas, apresentam organelas como mitocôndrias, retículo endoplasmático, complexo de Golgi, entre outras.

Quadro 2.1 | Comparação das principais características celulares de bactérias e fungos

Características	Fungos	Bactérias
Diâmetro	Aproximadamente 4µm (Candida)	Aproximadamente 1µm (Staphylococcus)
Núcleo	Eucariótico	Procariótico
Citoplasma	Mitocôndria e retículo endoplasmático presentes	Mitocôndria e retículo endoplasmático ausentes
Membrana celular	Esteróis presentes	Esteróis ausentes (exceto Mycoplasma)
Conteúdo da parede celular	Quitina	Peptideoglicano
Esporos	Esporos sexuais e assexuais para a reprodução	Endosporos para sobrevivência, não para a reprodução
Dimorfismo térmico	Sim (alguns)	Não
Metabolismo	Requerem carbono orgânico; aeróbios não-obrigatórios	Muitas não requerem carbono orgânico; muitos anaeróbios obrigatórios

Fonte: adaptado de Levinson e Jawetz (2005, p. 309).

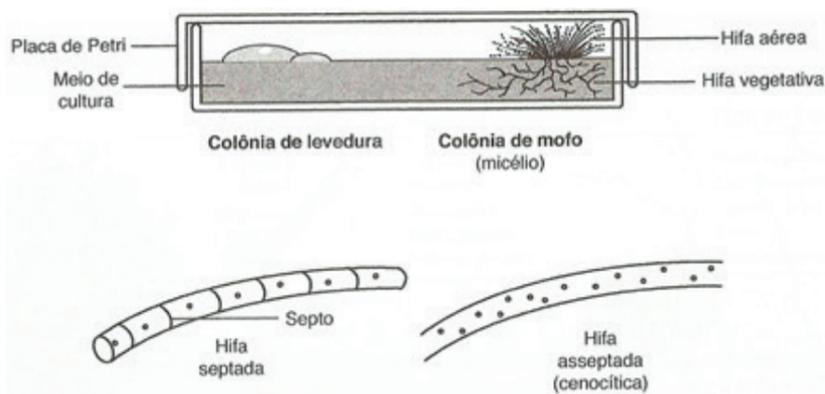
Como diferem em aspectos fundamentais, os fungos ocupam um reino exclusivo: o **Reino Fungi**. Uma dessas características é a presença de parede celular rica em **quitina**, e não de celulose, como nos vegetais, ou de peptideoglicano, como nas bactérias. Além disso, sua membrana celular contém os esteróis ergosterol e zimosterol, diferentemente das células animais, que possuem colesterol.

Os fungos são divididos em três grupos principais de acordo com seus aspectos morfológico ou de crescimento: as **leveduras**, os **bolores** (filamentosos) e os **cogumelos**.

As leveduras são organismos microscópicos unicelulares de forma esférica ou elipsoide, com diâmetro variável: de 3  $\mu\text{m}$  a 15  $\mu\text{m}$ . Assim como veremos no grupo dos fungos filamentosos, esses fungos unicelulares não apresentam micélio, mas em laboratório podem formar agrupamentos ou colônias. Leveduras como a *Candida albicans* e o *Cryptococcus neoformans* são exemplos de patógenos humanos, sendo que a primeira espécie é a causadora da candidíase oral – o “sapinho” – e da candidíase vaginal.

Os bolores ou fungos filamentosos, como o próprio nome já diz, crescem como longos filamentos multicelulares em forma de túbulos cilíndricos ramificados denominados **hifas**, com diâmetro variando de 2  $\mu\text{m}$  a 10  $\mu\text{m}$ . Hifas que crescem sob a superfície são denominadas vegetativas, e as que se estendem além da superfície são as hifas aéreas ou reprodutivas. De acordo com a presença ou ausência de paredes transversais em intervalos regulares (septos), as hifas podem ser denominadas hifas **septadas** ou **não septadas**. No caso do segundo grupo, elas são cianocíticas, ou seja, são multinucleadas. As hifas vão crescendo e formando um emaranhado como na estrutura de um tecido, e constituem o **micélio**.

Figura 2.2 | Aspecto de levedura e bolores

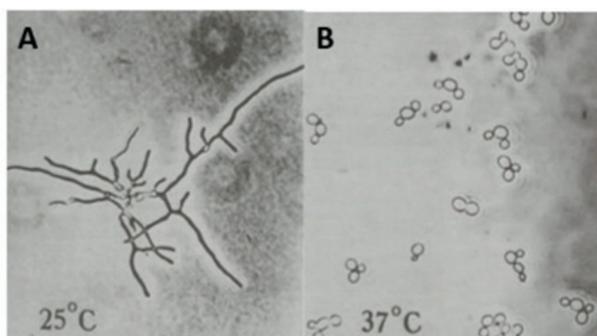


Fonte: Burton e Engelkirk (2005, p. 97).



Alguns fungos são denominados **dimórficos**, ou seja, de acordo com as condições às quais são submetidos, eles podem crescer como leveduras ou formar filamentos. Observe o exemplo da espécie *Histoplasma capsulatum*. Quando esse fungo é colocado à temperatura ambiente (25 °C) apresenta aspecto de mofo e pode formar colônias (micélio) (Figura 2.3 A). No entanto, quando está no interior do corpo humano, ou seja, a 37 °C, esse fungo apresenta-se como levedura, capaz de produzir colônias.

Figura 2.3 | Dimorfismo fúngico



Fonte: adaptado de Burton e Engelkirk (2005, p. 103).

Um dos fungos filamentosos mais importantes é o *Penicillium notatum*, a fonte do primeiro antibiótico descoberto, que é usado até hoje: a penicilina.

Os cogumelos são fungos mais carnudos, podendo ser encontrados no chão de florestas, em troncos de árvores. Esses grandes fungos consistem em uma rede de filamentos (micélio), que cresce na porção abaixo do solo ou na madeira, e em um corpo de frutificação (cogumelo propriamente dito) que produz e libera esporos.

### 2.1.2 Genética e reprodução de fungos

Os fungos apresentam uma imensa variedade de espécies, no entanto, muitas vezes identificar um fungo apenas com base em sua morfologia é algo impossível. Por isso, as técnicas genéticas, da biologia molecular têm facilitado a vida dos micologistas trazendo ferramentas para a identificação e caracterização das

espécies existentes. Inicialmente classificados como vegetais, hoje se sabe que, na verdade, fungos compartilham com animais um ancestral comum mais recente que qualquer outro organismo. Assim, podemos dizer que, filogeneticamente, fungos e animais são "grupos irmãos", tendo divergido há cerca de 1,5 bilhão de anos. Os cientistas puderam chegar a essas conclusões graças ao sequenciamento comparativo da subunidade menor de ribossomos de grupos de eucariotos.



### Refleta

Quais características podem ter levado os cientistas do passado a agruparem os fungos juntamente às plantas? A construção de um quadro comparativo das características de plantas, fungos e animais pode ajudá-lo a compreender a filogenia desses grupos.

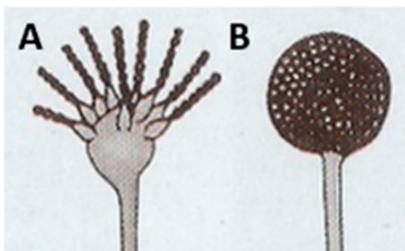
As formas de reprodução dos fungos variam de acordo com a espécie. A maioria se reproduz principalmente de forma assexuada. Isso pode ocorrer de três formas:

- Crescimento, alongamento e disseminação de hifas.
- Divisão celular, ou seja, o brotamento nas leveduras, por exemplo.
- Produção assexuada de esporos, chamados de **conídios** ou **esporangiósporos**, de acordo com a espécie. Esses esporos são geneticamente idênticos entre si e são produzidos a partir de estruturas especializadas nas extremidades laterais ou terminais de hifas.



### Assimile

Figura 2.4 | A) Conídio; B) esporangiósporo



Fonte: adaptado de Levinson e Jawetz (2005, p. 311).

No caso de espécies que se reproduzem sexualmente, ocorre o encontro de gametas unicelulares ou de hifas especializadas, denominadas **gametângios**. A partir dessas estruturas, então, são formadas as estruturas produtoras de esporos sexuais.

Assim, é principalmente com base no tipo de esporo ou no formato da estrutura na qual os esporos são produzidos que os fungos são classificados em três grupos principais:

- **Zygomycota** (zigomicetos): o encontro de gametas (fusão de hifas com troca genética) leva à formação de **zigósporos**, que são grandes esporos sexuais, únicos e de parede espessa. A eventual reprodução assexuada desse grupo ocorre através de esporângios. Os zigomicetos são descritos especialmente por seu papel na decomposição de alimentos, sendo um dos exemplos mais comuns a espécie *Rhizopus stolonifer*, mais conhecida como bolor de pão.

- **Ascomycota** (ascomicetos): possuem a estrutura produtora de esporos sexuais, os ascósporos, em forma de um saco fechado, chamado asco. A reprodução assexuada ocorre através de conídios. Sem dúvida, é o maior e mais diverso grupo do reino dos fungos, possuindo desde representantes unicelulares até espécies filamentosas. Apesar de serem muito importantes na deterioração da matéria vegetal, muitos ascomicetos são descritos em associações simbióticas na formação de líquens, juntamente com cianobactérias ou algas verdes. Pertencem a esse grupo a maioria das leveduras, como a *Saccharomyces* e a *Candida*, a dos bolores.

- **Basidiomycota** (basidiomicetos): seus esporos sexuais, os **basidiósporos**, são produzidos em uma estrutura claviforme. Esse grupo apresenta mais de 30 mil espécies descritas e seus principais representantes são os cogumelos, com sua estrutura reprodutiva (**basídio**) característica, e também as "orelhas de pau".



Figura 2.5 | Exemplos de estruturas reprodutivas de fungo zigomiceto (A), ascomiceto (B) e basidiomiceto (C)



Fonte: <<https://www.estudopratico.com.br/classificacao-dos-fungos-caracteristicas-filos-e-representantes/>>. Acesso em: 9 out. 2017.

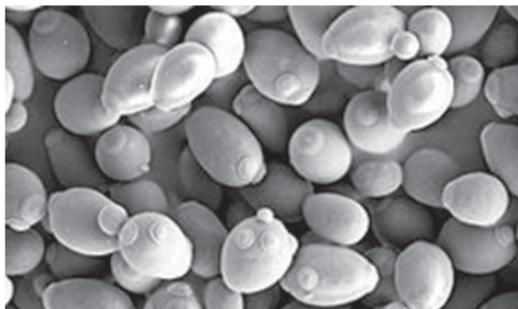
Tanto esporos sexuais quanto esporos assexuais, em condições favoráveis ao crescimento, são capazes de germinar e desenvolver-se, originando uma nova hifa e micélio. Dessa forma, a dispersão de esporos é uma grande vantagem no aumento da sobrevivência dos fungos uma vez que são, em geral, resistentes à desidratação, ao aquecimento, ao congelamento e a alguns agentes químicos.

### 2.1.3 Caracterização dos processos fisiológicos das células fúngicas

Conforme mencionado anteriormente, os fungos são encontrados em uma infinidade de ambientes e podem crescer facilmente na presença de fontes simples de carbono e nitrogênio. Nesse contexto, os fungos em sua maioria são caracterizados como **aeróbios obrigatórios**. Alguns grupos também podem apresentar metabolismo **aeróbio facultativo**, mas nenhum fungo é classificado como anaeróbio obrigatório.

Ainda dentro desse tema, você sabia que as leveduras têm uma grande importância nas festas de faculdade? Isso mesmo! Sabe aquela cervejinha gelada servida em diversos tipos de celebrações? Pois é! Sem a famosíssima *Saccharomyces cerevisiae*, ela não existiria.

Figura 2.6 | Micrografia eletrônica da levedura *Saccharomyces cerevisiae*



Fonte: <[https://en.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces\\_cerevisiae](https://en.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces_cerevisiae)>. Acesso em: 9 out. 2017.

Brincadeiras à parte, as leveduras têm um papel essencial na indústria alimentícia, especialmente de bebidas fermentadas e produção de pães. Isso porque, em condições anaeróbicas, algumas leveduras como a *S. cerevisiae* são capazes de fermentar o açúcar de grãos, uvas e outras frutas, formando álcool. Já em condições aeróbicas, as leveduras podem metabolizar o açúcar em dióxido de carbono e água, sendo essenciais para o “crescimento” de massas de pão e outras. Mais um papel das leveduras que não pode deixar de ser citado que é a fermentação da cana-de-açúcar na produção do etanol, um dos combustíveis mais usados no mundo todo.

#### **2.1.4 Mecanismos de ações por fungos e vírus**

Nesta etapa de nosso estudo, vamos abordar os mecanismos das infecções por fungos e também por vírus, a fim de completar o estudo desse segundo grupo.

Independentemente do tipo de microrganismo do qual estamos falando, para provocar uma doença, é necessário que o potencial patógeno penetre o hospedeiro (trato respiratório, inoculação no tecido etc.), adira ao tecido-alvo, entre em contato com suas células suscetíveis e consiga evadir-se do sistema imune, se multiplicando e causando algum tipo de lesão, seja ela local ou sistêmica.

No caso dos fungos, os componentes superficiais da parede celular têm grande importância biopatológica, uma vez que eles medeiam a fixação do fungo à célula hospedeira. Além disso, alguns fungos podem formar o tubo germinativo no interior de macrófagos, produzir substâncias neutralizadoras dos radicais livres das células de defesa (catalase, por exemplo), entre outros mecanismos. Nos seres humanos,

as infecções fúngicas são conhecidas como **micoses**, e podem ser do tipo superficial, cutânea, subcutânea, sistêmica ou oportunista. O quadro a seguir ilustra as principais micoses e seus fungos causadores:

Quadro 2.2 | Principais micoses e fungos causadores

<b>Categoria</b>	<b>Micose</b>	<b>Agente causador (fungo)</b>
Superficial	Pitíriase versicolor Tinha negra Piedra branca Piedra negra	Espécies de <i>Malassezia</i> <i>Hortaea werneckii</i> Espécies de <i>Trichosporon</i> <i>Piedraia hortae</i>
Cutânea	Dermatofitose Candidíase de pele, mucosas ou unhas	Espécies de <i>Microsporum</i> , <i>Trichophyton</i> e <i>Epidermophyton</i> <i>floccosum</i> <i>Candida albicans</i> e outras espécies de <i>Candida</i>
Subcutânea	Esporotricose Cromoblastomicose Micotoma Feoifomicose	<i>Sporothrix schenckii</i> <i>Phialophora verrucosa</i> , <i>Fonsecae pedrosoi</i> e outros <i>Pseudallescheria boydii</i> , <i>Madurella mycetomatis</i> e outros <i>Exophiala</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Exserohillum</i> e outros bolores demácios
Endêmica (primária, sistêmica)	Coccidioidomicose Histoplasmose Blastomicose Paracoccidioidomicose	<i>Coccidioides posadasii</i> e <i>Coccidioides immitis</i> <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Blastomyces dermatitidis</i> <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>
Oportunistas	Candidíase sistêmica Criptococose Aspergilose Hialoifomicose  Feoifomicose  Mucormicose (zigomicose) Peniciliose	<i>Candida albicans</i> e outras espécies de <i>Candida</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> e <i>Cryptococcus gattii</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> e outras espécies de <i>Aspergillus</i> Espécies de <i>Fusarium</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Trichosporon</i> e outros bolores <i>hialinos</i> <i>Cladophialophora bantiana</i> ; espécies de <i>Alternaria</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Exserohillum</i> e numerosos outros bolores demácios Espécies de <i>Rhizopus</i> , <i>Absidia</i> , <i>Cunninghamella</i> e outros zigomicetos <i>Penicillium marneffeii</i>

Fonte: adaptado de Brooks, Carroll, Butel, Morse e Mietzner, (2012, p. 626).

A **micoses superficiais** acometem pelos, unhas e epiderme, enquanto as **micoses cutâneas** penetram um pouco mais e podem atingir a derme. Ambas podem ser chamadas também de **dermatofitoses**; portanto, os fungos causadores dessas micoses são denominados **dermatófitos**. O sucesso da infecção é favorecido pelo calor, pela umidade e pelas características bioquímicas da pele do hospedeiro, e, geralmente, é adquirida por contato direto ou compartilhamento de toalhas, roupas etc.

As **micoses subcutâneas** são causadas por fungos que vivem no solo ou na vegetação e são capazes de infectar os tecidos subcutâneos submetidos a trauma, por exemplo, perfuração por metal contaminado. Nesse caso, em resposta à infecção, o organismo contaminado forma **granulomas**, que são lesões nodulares com aguda supuração de aspecto grotesco. Essas lesões necessitam de tratamento imediato, uma vez que podem evoluir para lesões necróticas ou ulcerativas, além do risco de disseminação corporal.

As **micoses endêmicas** ou **sistêmicas** são resultado principalmente da **inalação** de esporos de fungos patogênicos. Esses esporos podem estar presentes em solo, poeira e até mesmo fezes contaminadas (de aves e morcegos). Nem todas as infecções resultam em doença, sendo a maioria assintomática e autolimitada, uma vez que essas micoses não são transmissíveis, salvo raras exceções. Nos casos mais graves, entretanto, algumas pessoas desenvolvem a doença de forma disseminada, em que o microrganismo pode crescer em outros órgãos, causando diversas lesões destrutivas que podem levar à morte. Geralmente, nessas infecções, as respostas imunológicas primárias são capazes de estancar o problema das lesões inflamatórias iniciais. Porém, em indivíduos imunocomprometidos, como pacientes com HIV/AIDS, o risco de desenvolvimento de uma grave infecção é muito maior.

As **micoses oportunistas**, assim como a maioria das doenças desse tipo, afetam tecidos ou pacientes em desequilíbrio fisiológico ou com suas defesas imunológicas comprometidas. O principal exemplo de micose oportunista é a candidíase, causada pela levedura *Candida albicans*, constituinte da flora normal das mucosas dos tratos respiratório superior, gastrointestinal e genital feminino.

Assim, num desequilíbrio fisiológico do hospedeiro, a *C. albicans* pode ter um grande aumento em quantidade, podendo lesionar o tecido local e provocar a infecção.

Vale lembrar que, além das infecções micóticas, outros danos podem ser causados por fungos, como as **micotoxicoses**, causadas por ingestão de fungos e ou suas toxinas, e também as **alergias** a esporos.

Com relação aos mecanismos de infecção dos vírus e sua capacidade de causar doenças, podemos ter basicamente duas abordagens.

Primeiramente, vamos focar naquela em que a infecção viral atua de quatro maneiras principais:

- **Morte celular:** uma das principais causas desse efeito na célula acometida é a inibição da síntese proteica, uma vez que a maquinaria celular se torna "escrava" dos comandos genéticos virais. Consequentemente, a célula passa a produzir proteínas virais.

- **Fusão das células:** com a formação de células multinucleadas: ocorre por exemplo no caso de infecção com herpesvírus e paramixovírus. Esse é o resultado de mudanças da membrana citoplasmática devido à inserção de proteínas virais nessa estrutura.

- **Transformação maligna:** certos vírus causam crescimento incontrolável, sobrevivência prolongada e mudanças morfológicas. Essas mudanças são muito importantes clinicamente, uma vez que representam as características infecciosas iniciais durante o estabelecimento de um tumor.

- **Mudanças morfológicas e funcionais não aparentes:** apesar da infecção e replicação viral, a célula pode incorporar o material genético viral e sobreviver sem grandes interferências.

Focando no **paciente infectado**, a patogênese viral envolve a transmissão do vírus e sua entrada no hospedeiro, a multiplicação viral e dano celular, a disseminação do vírus para outras células, tecidos e órgãos, a resposta imune e a persistência do vírus em alguns casos específicos.

Dessa forma, os estudos dos novos medicamentos estão cada vez mais focados em bloquear o sucesso da infecção por patógenos em alguma dessas etapas, e não apenas em tratar os sintomas gerados por uma doença já instalada.



### Pesquise mais

Para conhecer um pouco mais sobre as micoses mais comuns e ver o aspecto de algumas dessas doenças, acesse:

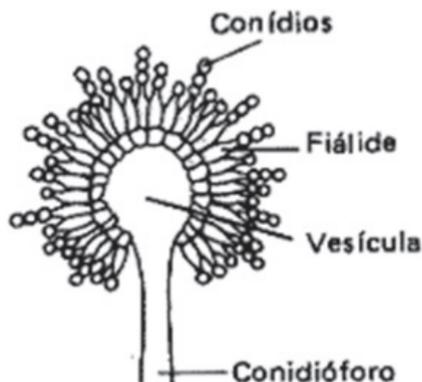
LIMA, R. B. Micoses superficiais da pele. **Dermatologia.net**. [s.d.]. Disponível em: <<http://www.dermatologia.net/cat-doencas-da-pele/micoses-superficiais-da-pele/>>. Acesso em: 10 out. 2017.

OLIVEIRA, Zilda Najjar. Micoses. **Drauzio Varella**, 13 fev. 2012. 2012. Disponível em: <<https://drauziovarella.com.br/entrevistas-2/micoses/>>. Acesso em: 10 out. 2017.

## Sem medo de errar

O coração de João está batendo forte nessa avaliação final, mas como ele é muito aplicado e estudou bastante, está pronto para receber o título de especialista em segurança alimentícia que tanto almeja. Para ter sucesso, o primeiro passo é avaliar a placa de Petri contendo o contaminante a ser estudado. Apesar de algumas espécies de fungos e bactérias possuírem aspectos bem semelhantes em cultura, quando se trata de um fungo filamentosos, ou seja, que forma bolores, é normal que o microrganismo apresente um aspecto de algodão ou pelúcia a olho nu. É exatamente dessa forma que a amostra está se apresentando e, portanto, um forte indicativo de fungos. Para se ter uma avaliação mais precisa, a imagem obtida através da observação em lupa já mostra estruturas fúngicas bem características, ou seja, as hifas reprodutivas, que contêm pequenas estruturas especializadas na produção de esporos. Assim, praticamente seguros do grupo de microrganismos, a última imagem vem para confirmar que, sim, estamos visualizando uma espécie de fungo. Na imagem obtida por microscopia, podemos observar claramente um conidióforo e os esporos produzidos. Assim, um esquema que pode ser apresentado na avaliação está desenhado na figura a seguir:

Figura 2.7 | Conidióforo



Fonte: <<http://micologiaclinicauf.wixsite.com/micoclinicaufcsa/estruturas-fngicas>>. Acesso em: 10 out. 2017.

Ao final da avaliação, João não só gabaritou o teste como também sugeriu que o fungo apresentado pertence ao gênero *Aspergillus sp*, mostrando assim todo o seu conhecimento em micologia e o merecimento do diploma.

## Avançando na prática

### Micologia nas férias

#### Descrição da situação-problema

Para comemorar sua formatura, João decidiu viajar com um grupo de amigos para conhecer as cavernas de uma reserva ecológica no sul do estado de São Paulo. Em um dos passeios, o guia turístico sugeriu que, antes do grupo adentrar determinada caverna, eles vestissem máscaras respiratórias. Como o dia estava muito quente, muitas pessoas se sentiram incomodadas com a exigência e não quiseram seguir a instrução. Lembrando que algumas cavernas possuem uma população de morcegos muito numerosa, de que forma João, exercendo seu papel de biólogo, pode explicar para seus amigos a importância dessa recomendação?

#### Resolução da situação-problema

João precisa lembrar aos colegas aventureiros de que os morcegos são transmissores de algumas doenças. Ainda que não estejamos

focando em doenças como raiva, é possível adquirir uma doença através da inalação de esporos fúngicos presentes nas fezes dos morcegos. Portanto, João deve falar aos amigos sobre a histoplasmose. De acordo com a quantidade de esporos inalada, o fungo *Histoplasma capsulatum* pode atingir o pulmão do hospedeiro. Fagocitados por macrófagos, os esporos evoluem para a forma de levedura e são capazes de se multiplicar e se disseminar para outros tecidos. Uma das manifestações clínicas da doença é a pneumonia, que, quando não tratada, pode agravar o quadro clínico.

## Faça valer a pena

**1.** Inicialmente caracterizados como vegetais, os fungos, na verdade, possuem características tão específicas que têm seu próprio reino, o Reino Fungi. Uma dessas características é a presença de parede celular rica em quitina, e não de celulose, como nos vegetais, ou de peptidoglicano, como nas bactérias. Dentro desse grupo, são encontrados fungos com diferentes aspectos morfológicos.

Quais são esses fungos? Selecione a alternativa correta:

- a) Leveduras, fungos unicelulares e cogumelos.
- b) Leveduras, bolores e cogumelos.
- c) Fungos filamentosos, bolores e cogumelos.
- d) Fungos unicelulares, fungos multicelulares e hifas.
- e) Hifas, leveduras e cogumelos.

**2.** De acordo com a espécie, os fungos apresentam morfologia bem característica, podendo ser unicelulares ou multicelulares. No entanto, algumas espécies, de acordo com as condições às quais são submetidas (temperatura, por exemplo), podem variar sua morfologia.

Como essas espécies são denominadas? Selecione a alternativa correta:

- a) Bimorfas.
- b) Mutantes.
- c) Dimórficas.
- d) Variáveis.
- e) Transmorfas.

**3.** As doenças causadas por fungos são chamadas de micoses. Elas podem ser classificadas como superficiais, cutâneas, subcutâneas, sistêmicas ou oportunistas.

Selecione a alternativa correta que corresponde a um exemplo de micose oportunista:

- a) Candidíase.
- b) Histoplasmose.
- c) Dermatomicose.
- d) Granuloma fúngico.
- e) Meningite fúngica.

## Seção 2.2

### Controle das interferências fúngicas e virais

#### Diálogo aberto

João, nosso colega biólogo especialista em segurança alimentícia, está participando de um processo seletivo de uma grande empresa do setor de alimentos. Ele recebeu um e-mail com uma convocação para uma avaliação prática. A vaga é para o setor de microbiologia, e João quer muito ingressar nessa área, colocando seus conhecimentos fresquinhos em prática. No e-mail, enviado pelo RH da empresa, consta, entre várias informações, as seguintes:

“Nossa dinâmica acontecerá nas dependências do laboratório de microbiologia.

Venha a caráter.” Já sabendo das “pegadinhas” comuns dos modernos processos seletivos e intrigado com essa parte do e-mail, João ficou se perguntando o que o esperava.

Em sua opinião, de que forma João deve se vestir para participar dessa etapa do processo seletivo?

Chegando na empresa, João foi encaminhado até o laboratório de microbiologia, onde encontrou-se com um técnico do laboratório responsável por sua avaliação. O técnico explicou que João deveria se paramentar para a manipulação de um organismo potencialmente patogênico, indicando em qual equipamento ele deveria fazer esse procedimento. João também precisaria identificar ao menos cinco equipamentos ou materiais do laboratório, indicando sua importância ou uso na rotina de um laboratório de microbiologia. Vamos ajudar João a ser aprovado nesse processo seletivo?

#### Não pode faltar

Nesta etapa de nosso estudo, vamos fechar o tema vírus e fungos apresentando as principais consequências de suas infecções para a saúde humana e como podemos controlá-las. Na sequência,

iniciaremos uma abordagem um pouco mais aplicada, com os primeiros passos para a atuação em um laboratório da área de microbiologia.

### **Consequências das ações de fungos e vírus nos organismos**

As consequências da invasão do organismo, tanto por vírus quanto por fungos, já foram parcialmente trabalhadas em seções anteriores, especialmente os eventos celulares que se sucedem para a instalação do agente no corpo do hospedeiro. Para uma visão macroscópica do produto da ação desses seres, precisamos lembrar que o tipo e a gravidade das infecções variam com a espécie do agente causador, o tipo de doença efetivamente causada, a integridade imunológica do hospedeiro e as medidas que são tomadas para se tratar a doença.



#### **Exemplificando**

Veja os agentes, as fontes, os reservatórios e o controle de diversas doenças epidêmicas mostradas na Tabela 33.2 em MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. **Microbiologia de Brock**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010, p. 938 e 939.

Agora, construiremos juntos uma abordagem das consequências das principais doenças virais e fúngicas que acometem os humanos.

Como já discutimos anteriormente, nem todos os microrganismos são capazes de penetrar o organismo humano e levar a uma doença. No caso dos vírus, cerca de 21 famílias de vírus têm essa capacidade, sendo que uma mesma família pode ser responsável por diferentes doenças. Assim, uma vez dentro do organismo e obtendo sucesso em seu ciclo replicativo, os vírus podem vir a ser detectados pelo sistema imune. Dessa maneira, imagine centenas de células infectadas sendo eliminadas pelas células de defesa do organismo como resultado da resposta imunológica. Esse "genocídio" celular causa a liberação de enzimas, citocinas, hormônios e tantas outras substâncias orgânicas que podem levar aos efeitos, danosos ou não, conhecidos como sintomas. Ainda que não letais, alguns efeitos fisiológicos, como a perda da capacidade hormonal, podem ser inclusive resultado do dano às funções celulares. Dessa maneira, quando adoecemos, não

apenas por infecção viral, mas por outros agentes, nos sentimos mal: é a combinação da alteração do funcionamento celular e da resposta imune do corpo. De maneira geral, uma das substâncias responsáveis por esses sintomas, mas que também atua como um alerta para as células de defesa, é denominada **interferon**. Assim, alguns dos sintomas mais típicos em viroses comuns são cansaço excessivo, mal-estar, moleza, febre em diversas intensidades, dor generalizada, entre outros. Nesse contexto, e considerando as inúmeras doenças causadas por vírus, elencamos algumas das doenças mais comuns para falarmos de suas consequências para o organismo humano.

### **Infecção por herpesvírus simples (HSV)**

Trata-se de uma doença citolítica e, por essa razão, as manifestações patológicas são causadas por necrose das células acometidas somada à resposta inflamatória. Quanto maior a citopatologia viral, maior o grau dos danos. De forma geral, a maioria das infecções primárias por HSV são leves e, muitas vezes, assintomáticas, sendo raras as manifestações sistêmicas. Caso o hospedeiro encontre-se imunocomprometido, o risco de disseminação e comprometimento de órgãos é essencialmente maior. Dependendo do tipo viral, as manifestações clínicas incluem ulcerações das mucosas bucal e gengival, podendo causar febre, faringite, amigdalite, entre outros sintomas. Pode também acometer os olhos, causando grave ceratoconjuntivite, e a região genital, causando lesões ulcerativas no pênis, colo uterino, vulva, vagina e períneo. Uma forma grave da infecção por herpesvírus do tipo 1 é a encefalite que, potencialmente fatal, quando curada, pode deixar defeitos neurológicos residuais.

### **Hepatite**

Existem pelo menos, cinco tipos de vírus da hepatite: A, B, C, D e E. Ao pé da letra é uma doença designada pela inflamação do fígado que leva, entre outras consequências celulares, à degeneração das células do parênquima hepático, necrose dos hepatócitos e ruptura dos cordões hepáticos. Graças à preservação do arcabouço formado pelas fibras reticulares, dependendo da gravidade da doença, pode haver a regeneração dos hepatócitos e a recuperação do órgão. A hepatite pode ser consequência de outros tipos de

infecções, no entanto, os sintomas mais associados à hepatite viral é a icterícia, náuseas, anorexia e febre baixa. Além desses sintomas, independentemente do tipo de vírus causador, são observadas lesões histopatológicas no fígado durante a doença aguda.



### Assimile

Veja as principais características dos vírus da hepatite consultando a tabela em BROOKS, G. F. et al. **Microbiologia médica de Jawetz, Melnick e Adelberg**. 25. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012, p. 472.

## Febre amarela

Muito falada atualmente, a febre amarela é causada por um vírus da família *Flaviviridae* muito comum nas regiões tropicais. Os sintomas de início abrupto incluem febre, calafrios, fraqueza, mialgia, cefaleia, vômitos, entre outras. Se a doença progredir para o estado mais grave, com falência hepatorenal, a mortalidade pode chegar a 20%, ocorrendo em até dez dias.

## Dengue

Causada por um vírus da mesma família do agente causador da febre amarela, os sintomas da dengue incluem febre, mal-estar, calafrios, cefaleia, dor nas articulações, incômodo nos globos oculares, entre outras. A convalescência pode perdurar alguns dias, mas as complicações e a morte não são frequentes. A síndrome mais grave, conhecida popularmente como dengue hemorrágica, apresenta inicialmente os mesmos sintomas, porém, o estado geral é agravado. Isso porque ocorre o aumento da vascularidade capilar com fuga de plasma para as áreas intersticiais e aumento da concentração de citocinas vasoativas, que pode levar o paciente ao choque.

## Infecções pelo vírus *Influenza*

Mais conhecido como vírus da gripe, esse é um dos vírus que mais acometem seres humanos. Com inúmeros subtipos, esse agente ataca, principalmente, o trato respiratório superior. Além das consequências mais comuns, como calafrios, cefaleia, febre alta, dores musculares etc.; quando não tratada, a gripe pode

evoluir para quadros que incluem pneumonia e, nos casos raros, a síndrome de Reye com taxa de mortalidade chegando a 40%. Vale lembrar que infecções pelo Influenza são um grande risco, especialmente para idosos.

### **Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA)**

A AIDS, ou SIDA, é uma das doenças “novas” que mais preocupam a sociedade moderna desde o final do século XX, sendo que mais de 20 milhões de pessoas já morreram em decorrência dela. Causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), as suas manifestações clínicas são inespecíficas, tais como fadiga, cefaleia, erupções cutâneas etc. A principal consequência dessa infecção é a pronunciada supressão do sistema imunológico, que acaba por permitir o desenvolvimento de ampla variedade de infecções oportunistas graves. Com o avanço dos estudos científicos, a AIDS atualmente é uma doença tratável, porém, ainda é incurável.



#### **Assimile**

Para que você se aprofunde nas principais doenças virais com uma abordagem molecular muito interessante, vale a pena estudar o capítulo 19 em MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

Assim como já abordamos anteriormente, nem todos os fungos são causadores de doenças. Muitos deles, inclusive, fazem parte de nossa flora normal e atuam em nosso benefício. Aliás, eles atuam em benefício global quando lembramos que esses seres são um dos principais responsáveis pela degradação da matéria orgânica e ciclagem desses elementos. No entanto, especialmente como consequência da imunodepressão – causada por doenças ou medicamentos –, os fungos se tornaram agressivos e estão se espalhando em silêncio e causando graves infecções, são resistentes a antifúngicos, e potencialmente fatais. Anteriormente, já discutimos de que forma os fungos podem infectar nosso organismo. Agora, focando numa abordagem patológica dos fungos, estudaremos as consequências das principais infecções fúngicas para o organismo humano.

## Onicomicose

Também conhecida como "tinha dos pés" (ou "pés-de-atleta"), essa micose acomete as unhas do hospedeiro e pode ser causada por fungos que pertencem aos gêneros *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*. As principais consequências dessa infecção são unhas amarelas, quebradiças, espessas e friáveis. De maneira geral, essa micose é bem chata de ser eliminada, mas a sua consequência mais grave pode ser em pacientes imunocomprometidos, levando ao desenvolvimento de uma infecção sistêmica.

## Candidíase

Uma das doenças mais inconvenientes, especialmente entre as mulheres, é causada por leveduras do gênero *Candida*. No caso da candidíase mucosa – "sapinho" –, ocorrem lesões esbranquiçadas na língua, lábios, gengivas e/ou palato. Já na mucosa vaginal, esse fungo causa vulvovaginite, com muito incômodo causado por irritação, coceira e corrimento vaginal característico.

## Histoplasmose

Essa doença é causada pelo fungo *Histoplasma capsulatum* que, na natureza, cresce como um bolor, e pode ser encontrado no solo e em fezes de aves e morcegos. A aquisição desse patógeno ocorre com a inalação dos conídios, que dentro dos pulmões são fagocitados por macrófagos, o que permite sua disseminação para outras partes do corpo do hospedeiro. Essa doença, assim como a maioria das micoses, é mais grave em indivíduos com algum desequilíbrio do sistema imune. Nesses, as consequências da infecção incluem aumento do tamanho do baço e do fígado, febre alta, anemia e, se não tratados, alta taxa de mortalidade.

## Criptococose

Essa doença pode ser causada por duas espécies de leveduras, a *Cryptococcus neoformans* e *C. gattii*. Após inaladas, as leveduras migram dos pulmões para o sistema nervoso central, onde vão causar meningoencefalites. Por isso, a principal manifestação clínica consequente à infecção é a meningite fúngica, com aparecimento de cefaleia, rigidez na nuca e desorientação. Outros sintomas incluem lesões na pele, nos pulmões e em outros órgãos. Como outras doenças fúngicas, a ausência de tratamento agrava a infecção e pode ser fatal.

## Métodos das ações de fungos e vírus

Ficou impressionado com as consequências das doenças fúngicas e virais? Pois chegou o momento de aprendermos quais métodos podem ser aplicados para controlar essas infecções.

No caso dos vírus, isso pode ser feito utilizando-se basicamente três estratégias:

- Medidas de controle na população, ou seja, campanhas de educação, saneamento básico, controle do vetor etc.
- Imunoprofilaxia, isto é, vacinação.
- Agentes antivirais.

Assim como em outras doenças, o ciclo patológico pode envolver três elementos: o agente causador, o hospedeiro e o vetor. É nesse sentido que as campanhas de conscientização da comunidade podem auxiliar. O maior exemplo são as campanhas contra a reprodução do mosquito **Aedes aegypti**, vetor de doenças como dengue, febre amarela, chikungunya e zika, males tão falados nos tempos atuais. As campanhas também têm sua importância na vacinação da população. Nesse sentido, muitas doenças virais, como sarampo, caxumba, rubéola, poliomielite, varíola, entre outras, estão controladas graças à imunização. Os agentes antivirais são mais recentes e mais difíceis de serem desenvolvidos, uma vez que os vírus sofrem inúmeras mutações, e sua estrutura genética é constantemente alterada. No entanto, alguns antivirais têm se mostrado eficientes na inibição da replicação do vírus no interior das células.



### Exemplificando

Consulte a tabela com os principais agentes antivirais em BURTON, G. R. W.; ENGELKIRK, P. G. **Microbiologia para as Ciências da Saúde**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005, p. 185.

Veja também os principais fármacos antifúngicos apresentados em BROOKS, G. F. et al. **Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick e Adelberg**. 25. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012, p. 655-660.

Para o controle dos fungos, duas situações são possíveis: a utilização de agentes antifúngicos e a prevenção da contaminação através de atitudes profiláticas. Como os fungos são seres eucariontes, muitas vezes o desenvolvimento de substâncias que atuem sobre células fúngicas sem atingir as células do hospedeiro pode ser limitado, uma vez que pode haver certa toxicidade para o paciente. Isso porque muitos processos celulares e moleculares são semelhantes, havendo homologia entre genes e proteínas. Por isso, de modo geral, os antifúngicos apresentam estreito espectro de ação e pouca penetração em certos tecidos.

Para evitar a infecção por fungos, a melhor estratégia é a prevenção. Assim, algumas atitudes minimizam tanto a aquisição quanto a transmissão de micoses. São elas:

- Ter bons hábitos de higiene, lavando e enxugando bem todas as partes do corpo.
- Usar roupas limpas e adequadas para a temperatura atual;
- Não compartilhar toalhas e equipamentos de banho.
- Evitar usar tecidos sintéticos, especialmente em meias e roupas íntimas.
- Não compartilhar instrumentos de manicure e/ou pedicure.
- Não andar descalço em locais úmidos e com circulação de grande número de pessoas.
- Evitar contato físico com pessoas com micoses.
- Evitar locais com fezes de aves e/ou morcegos.
- Ao primeiro sintoma, procurar um médico para identificar, tratar e evitar que a doença se dissemine pelo organismo.



**Reflita**

Como os profissionais de saúde podem atuar no controle das infecções fúngicas, bacterianas ou mesmo virais? Você já viu um médico ou um estudante da área da saúde andando por aí com seu jaleco e seu estetoscópio no pescoço? O que você pensa sobre essa atitude?

## **Procedimentos e materiais utilizados nos laboratórios de microbiologia**

O laboratório de microbiologia tem um papel muito importante no universo acadêmico e científico, no industrial e também em análises clínicas. É através dos procedimentos e experimentos realizados nesse setor que a identificação, caracterização fisiológica e bioquímica, crescimento, reprodução e desenvolvimento de substâncias a partir de microrganismos e agentes virais é possível. De maneira geral, laboratórios que empregam procedimentos microbiológicos possuem diversos setores. O setor de recebimento de amostras deve cuidar da correta identificação e armazenamento adequado das mesmas, já que, muitas vezes, trata-se de material biológico ou mesmo alimento perecível (indústrias). Diversos procedimentos, de acordo com a proposta da análise microbiológica, podem ser realizados a partir de então, dentre eles:

- Isolamento de patógenos a partir de espécimes clínicos, que inclui as hemoculturas, uroculturas, culturas fecais, análises de ferimentos e abscessos etc.

- Métodos de identificação dependentes de cultivo, como o uso de meios de crescimento diferenciais que permitem a identificação de isolados clínicos pela observação de alteração de coloração dos meios de diagnóstico.

- Teste de sensibilidade a fármacos antimicrobianos.

- Análises para o controle de qualidade de alimentos e medicamentos.

De acordo com o foco do laboratório, os equipamentos nele presentes também podem variar. De maneira geral, num laboratório de microbiologia, alguns dos itens a seguir fatalmente estarão presentes:

- Diversas vidrarias como placas de Petri, pipetas, béqueres, tubos de ensaio, lâminas etc.

- Autoclave: aparelho de esterilização através de calor úmido sob pressão.

- Balança: pesagem de substâncias, medicamentos, meios de cultura;
- Alça de platina: instrumento esterilizável necessário para distribuir os microrganismos no meio de cultura;
- Capela de fluxo laminar: protege o manipulador dos agentes microbiológicos em manuseio e pode ser de vários tipos;
- Incubadora: aparelho com temperatura e atmosfera controladas para o crescimento de microrganismos.



### Pesquise mais

Tanto os procedimentos quanto os materiais utilizados em microbiologia são muito variados. Conheça mais sobre eles em:

- MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010, Capítulo 32.
- BURTON, G. R. W.; ENGELKIRK, P. G. **Microbiologia para as ciências da saúde**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005, Capítulo 13.
- BROOKS, G. F. et al. **Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick e Adelberg**. 25. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012, Capítulo 47.

Você também vai gostar de ver os vídeos explicativos em:

- Aula prática: identificação da bactéria causadora de Infecção urinária – Simulação. Universidade Federal de Goiás. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=-dc-588eo4w>>. Acesso em: 18 out. 2017.
- Investigação de micro-organismos por meio de cultivo e observação de fungos e bactérias. Universidade Estadual de Campinas. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=FY1-7elijaY>>. Acesso em: 18 out. 2017.

## Normas de biossegurança

Falar de normas de biossegurança é algo extremamente importante para a validação dos resultados obtidos, qualidade dos experimentos realizados, mas, acima de tudo, para a própria segurança do operador e das pessoas daquele ambiente, seja ele de pesquisa, de ensino ou mesmo industrial. Essas normas definem o conjunto de procedimentos, ações, técnicas, metodologias,

equipamentos e dispositivos que podem eliminar ou diminuir os riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços, que podem comprometer a saúde do homem, dos animais, do meio ambiente ou a qualidade dos trabalhos desenvolvidos, é de fundamental importância em laboratórios de ensino e pesquisa. Frequentemente, cada laboratório de microbiologia estabelece uma série de normas a serem seguidas pelos seus frequentadores baseadas, principalmente, no nível de risco dos organismos manipulados, ou seja, existem diferentes níveis de biossegurança. No entanto, todos eles englobam normas gerais como:

- Fazer uso de equipamentos de proteção individual (EPI), como jalecos, sapatos fechados, luvas adequadas etc.

- Lavar muito bem e desinfetar as mãos antes e, principalmente depois de iniciar a atividade laboratorial.

- Identificar todos os materiais e reagentes armazenando-os em locais adequados, especialmente os inflamáveis.

- Utilizar em áreas de trabalho microbiológico superfícies lisas, de fácil limpeza e também desinfecção.

- Não consumir alimentos, bebidas ou fumar dentro do laboratório.

- Acondicionar materiais e vidrarias contaminados de forma segura, limpá-los e esterilizá-los.



### Pesquise mais

Para saber mais sobre as normas de biossegurança, existem diversos manuais disponíveis:

- Manual de procedimentos para laboratórios. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/arquivos-publicacoes-laboratorio/manual-finalizado-com-foto-dipoa-cgal-14\\_09\\_16.pdf](http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/arquivos-publicacoes-laboratorio/manual-finalizado-com-foto-dipoa-cgal-14_09_16.pdf)>. Acesso em: 18 out. 2017.

- Segurança e controle de qualidade no laboratório de microbiologia

Clínica. ANVISA. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/servicosade/manuais/microbiologia/mod\\_2\\_2004.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicosade/manuais/microbiologia/mod_2_2004.pdf)>. Acesso em: 18 out. 2017.

- Boas práticas em microbiologia clínica. Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial. Disponível em: <<http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/Microbiologia.pdf>>. Acesso em: 18 out. 2017.

- Biossegurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia. Ministério da Saúde. Disponível em: <[http://w2.fop.unicamp.br/cibio/downloads/biosseguranca\\_em\\_laboratorios\\_biomedicos\\_e\\_de\\_microbiologia.pdf](http://w2.fop.unicamp.br/cibio/downloads/biosseguranca_em_laboratorios_biomedicos_e_de_microbiologia.pdf)>. Acesso em: 18 out. 2017.

## Sem medo de errar

Pleiteando uma vaga para trabalhar como especialista no setor de microbiologia de uma grande empresa alimentícia, João está participando de um processo seletivo e será avaliado desde o momento em que chegar na empresa. Sabendo do ambiente laboratorial em questão, João precisa escolher uma vestimenta adequada para esse setor, ou seja, precisa manter em mente as normas de biossegurança. Assim, João optou por usar calça comprida, sapatos fechados e uma camiseta de gola fechada. Ele retirou seu relógio, sua corrente de pescoço e seu anel de formatura. Numa bolsa, João ainda levou seu jaleco de algodão limpo e o vestiu assim que adentrou à sala anterior ao laboratório de microbiologia.

Quando foi pedido que ele se paramentasse para manipular um microrganismo potencialmente patogênico, João inicialmente lavou muito bem as mãos e os antebraços, vestiu seu jaleco, luvas apropriadas e máscara, deixando o técnico de laboratório e avaliador muito satisfeitos. Afinal, João compreendeu a "pegadinha" do e-mail, no trecho que dizia "Venha a caráter". João respondeu ao técnico que o local de manipulação do microrganismo deveria ser fechado, a fim de proteger o manipulador. Dessa forma, dirigiu-se para a capela de fluxo laminar, o que também está correto.

Na sequência, João indicou os equipamentos e materiais demonstrados na Figura 2.8, explicando suas funções no laboratório de microbiologia:

Figura 2.8 | Equipamentos e materiais da área microbiológica



Fonte:

A) <<http://www.lojabunker.com.br/estufas-bacteriologicas/Estufa-de-Cultura-Bacteriologica-27-Litros>>. Acesso em: 18 nov. 2017.

B) <<http://www.primatec.com.br/autoclave/autoclave-vertical-linha-cs---sem-pedal>>. Acesso em: 18 nov. 2017.

C) <<http://www.biomedicinabrasil.com/2011/06/bico-de-bunsen.html>>. Acesso em: 18 nov. 2017.

D) <<http://www.lojasynth.com/acessorios-gerais/alcas/alca-de-platina-5cm-x-0-5mm>>. Acesso em: 18 nov. 2017.

E) Adaptado de <<http://www.blog.mcientifica.com.br/placa-de-petri>>. Acessos em: 18 nov. 2017

João explicou que a incubadora ou estufa (A) bacteriológica possui temperatura e atmosfera controladas e permite as condições adequadas para o crescimento de microrganismos, especialmente bactérias e fungos. A autoclave (B) é um dos equipamentos mais importantes nesse tipo de laboratório, já que é utilizado para esterilização por calor úmido de materiais. O bico de Bunsen (C) é especialmente importante no momento de manipular os microrganismos pois, além de promover, próximo a ele, uma área livre de contaminantes, ele também é utilizado para flambar equipamentos utilizados para transferência de microrganismos, como a alça de platina (D). Por último, João falou sobre as placas de Petri (E), que são praticamente símbolos do laboratório de microbiologia, uma vez que são necessárias para o cultivo de uma grande variedade de microrganismos.

Dessa maneira, João foi impecável em sua avaliação e espera ansiosamente por sua aprovação para a vaga da empresa. Estamos na torcida, João!

### Mudando velhos hábitos

#### Descrição da situação-problema

João conseguiu a tão sonhada vaga para trabalhar como especialista em segurança alimentícia. Em sua área de trabalho, a equipe conta com muitos profissionais e também com estagiários. Infelizmente, nem todos foram tão estudiosos e aplicados quanto João e, por isso, ele já andou observando diversos comportamentos que podem colocar em risco tanto as pessoas que trabalham no laboratório quanto as próprias amostras analisadas. Ontem mesmo, João estava observando a atuação de um estagiário do setor técnico e viu quando o mesmo abriu uma placa de Petri com microrganismos longe do bico de Bunsen e fora da capela de fluxo laminar. Na sequência, essa mesma pessoa abriu um frasco de reagente químico, aproximou o nariz para cheirar a substância e realizou a pipetagem sugando o conteúdo com a boca. De que forma João pode orientar e corrigir esses procedimentos? Quais são os riscos?

#### Resolução da situação-problema

A manipulação de qualquer microrganismo precisa ser realizada tomando-se os devidos cuidados pautados pelas normas de biossegurança. Assim, tanto o manipulador quanto a amostra devem ser preservados sem riscos. Dessa maneira, a abertura da placa de Petri longe da área estéril do bico de Bunsen – próximo à chama – ou fora do ambiente da capela de fluxo laminar colocou em risco tanto o estagiário, que poderia ser contaminado pelo microrganismo, quanto a amostra, que poderia ser contaminada por partículas ou microrganismos do ar, havendo um comprometimento da qualidade da amostra. Com relação à manipulação de reagentes químicos nós jamais, devemos “cheirar” nenhum frasco. Se sentir o cheiro do que há no frasco for realmente necessário – uma vez que todos os recipientes de um laboratório devem estar identificados – o ideal é movimentar o ar próximo ao gargalo do frasco com uma das mãos como se quisesse trazer aquele ar para próximo de seu nariz. Outra atitude também muito grave – acredite, isso era comum antigamente – é a pipetagem com a boca. Não devemos de maneira alguma aspirar

qualquer líquido que seja dentro de qualquer ambiente laboratorial. Por mais que a pipeta esteja estéril e ainda que o líquido seja água, isso vai extremamente contra as boas práticas de laboratório. Imagine aspirar um líquido ácido ou um meio de cultura com bactérias patogênicas. Lembre-se sempre: tenha suas atitudes e procedimentos sempre pautados pelas normas de biossegurança, pela sua segurança e pela das pessoas em seu ambiente de trabalho.

## Faça valer a pena

**1.** Quando somos infectados por um vírus, os sinais que indicam o sucesso de seu ciclo replicativo são clinicamente denominados sintomas. Esses sinais podem ser atribuídos a diversos fatores, entre eles, a produção de uma substância responsável por dar uma espécie de alerta para as células de defesa do organismo.

Qual das alternativas a seguir apresenta essa substância?

- a) Interferon.
- b) Colesterol.
- c) Antígeno.
- d) Anticorpo.
- e) DNA viral.

**2.** Atualmente, sabe-se que o vírus da \_\_\_\_\_ pode ser do tipo \_\_\_\_\_. Uma das principais consequências para o hospedeiro é a \_\_\_\_\_ do \_\_\_\_\_, o que pode culminar na necrose desse órgão.

Selecione a alternativa que contém as palavras que completam corretamente as lacunas.

- a) hepatite – A, B ou C – inflamação – fígado
- b) herpes – I ou II – inflamação – céu da boca
- c) febre amarela – I ou II – inflamação – pulmão
- d) influenza – A ou B – infiltração – pulmão
- e) hepatite – A, B, C, D ou E – inflamação – fígado

**3.** Os métodos de controle das infecções fúngicas incluem principalmente a utilização de agentes antifúngicos e a prevenção da contaminação através de atitudes profiláticas.

Das alternativas a seguir, qual contém apenas medidas relacionadas ao controle das doenças fúngicas?

- a) Compartilhar toalhas de banho apenas com conhecidos, desinfetar instrumentos de manicure com álcool antes do uso e enxugar bem os pés após o banho.
- b) Não compartilhar toalhas de banho, não compartilhar instrumentos de manicure, enxugar bem os pés após o banho e não andar descalço em locais úmidos.
- c) Vestir roupas bem fechadas após o banho, não andar descalço em locais úmidos e nunca compartilhar roupas íntimas.
- d) Evitar usar roupas íntimas com tecido sintético, desinfetar instrumentos de manicure com álcool antes do uso e enxugar bem os pés após o banho.
- e) Usar apenas meias feitas com tecidos sintéticos, não frequentar locais com fezes de animais ou morcegos e lavar as mãos após ter contato físico com pessoas com micoses.

## Seção 2.3

### Esterilização e meios de cultura

#### Diálogo aberto

João, nosso colega biólogo, está muito feliz com seu trabalho como especialista em segurança alimentícia. Ele tem aplicado seus conhecimentos em microbiologia na prática e tem aprendido cada vez mais com a rotina do dia a dia. A empresa alimentícia para a qual ele trabalha está reorganizando uma série de setores, entre eles, o setor de esterilização. Como João não conhece muito bem os procedimentos realizados nesse setor, com o objetivo de ampliar seus conhecimentos, ele se dispôs a auxiliar a equipe responsável. Assim, o líder do setor solicitou que João separasse os materiais do setor, listados nesses quatro grupos: materiais a serem esterilizados por calor úmido, por calor seco, por óxido de etileno e por filtração. Vamos auxiliar João nesse trabalho primordial para o sucesso das análises microbiológicas?

Os materiais a serem esterilizados são: béqueres, erlenmeyer, frascos de vidro de armazenamento, tesouras, pinças metálicas, pipetas de Pasteur de vidro, placas de Petri de vidro, placas de Petri de plástico, pipetas graduadas, pipetas volumétricas, meios de cultura simples, meios de cultura contendo enzimas termolábeis, provetas e tubos de ensaio.

#### Não pode faltar

Nesta última etapa da Unidade 2, abordaremos a microbiologia de uma forma relativamente prática. Conheceremos alguns procedimentos comumente realizados não apenas em laboratórios de microbiologia, mas também em setores que exigem alguns cuidados maiores com relação à condição do material utilizado.

#### Caracterização de esterilização

Em algumas ocasiões, pode haver uma pequena confusão sobre o conceito de **esterilização**. Nesse sentido, quando nos

referimos a algum procedimento ou técnica que elimina bactérias, pode ser que não se trate necessariamente de uma esterilização. Para que seja configurada como tal, é necessário que haja não apenas a morte e/ou remoção de todos os microrganismos, mas deve incluir também a eliminação dos **esporos** de bactérias que são altamente resistentes. Assim, podemos definir a esterilização como um processo utilizado para obter um produto, um material ou um ambiente livre de todas as formas de microrganismos viáveis, ou seja, vírus, bactérias, fungos, protozoários, esporos etc.

Como vocês já devem imaginar, esse processo é importantíssimo para a área da saúde, principalmente em laboratórios e hospitais, já que previne a contaminação tanto da equipe técnica quanto dos pacientes. Dá até medo de imaginar como eram feitas as cirurgias antes do advento das técnicas de esterilização, não é?

Também foi através dos métodos de esterilização que a pesquisa em microbiologia pôde avançar, uma vez que a esterilização dos meios de cultura e dos materiais utilizados nas pesquisas permitiu o isolamento e manutenção das culturas puras, possibilitando assim o aprofundamento dos estudos. Na sequência, abordaremos as principais metodologias de esterilização.

## **Metodologias de esterilização**

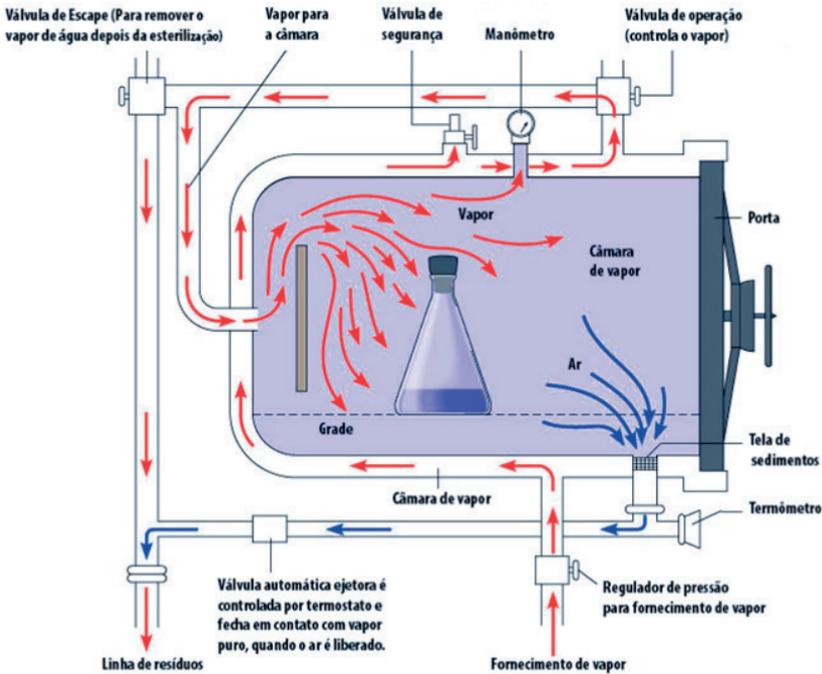
Existem procedimentos variados que podem ser empregados na esterilização de materiais e produtos. O método escolhido vai variar com o número, o tipo e a localização dos micro-organismos, bem como a presença de matéria orgânica, a concentração, o tempo de exposição e fatores físicos (temperatura e umidade relativa). Os principais métodos de esterilização utilizados na área de saúde são vapor ou calor úmido.

### **Vapor ou calor úmido**

De maneira geral, o calor é capaz de matar os microrganismos através de desnaturação proteica, danos na membrana e hidrólise do material genético. Nesse contexto, a esterilização por calor úmido é conhecida como autoclavagem e é o método mais comumente utilizado. Para esse procedimento é necessária a utilização de um equipamento chamado de autoclave que é um recipiente metálico de paredes grossas, que utiliza fechamento

hermético. Na verdade, é uma espécie de “painel de pressão laboratorial”.

Figura 2.9 | Esquema ilustrativo do funcionamento de uma autoclave



Fonte: <[http://www.blog.mcientifica.com.br/wp-content/uploads/2013/04/esquema\\_autoclave.jpg](http://www.blog.mcientifica.com.br/wp-content/uploads/2013/04/esquema_autoclave.jpg)>. Acesso em: 30 out. 2017.

A autoclave pode se apresentar de diversos tamanhos com sistemas dos mais simples aos mais modernos, mas sempre utiliza o mesmo princípio de calor úmido e possui basicamente os seguintes itens:

- Cilindro de metal resistente.
- Resistência.
- Tampa com parafusos de orelha.
- Válvula de segurança e de ar.
- Chave para controle da temperatura;

- Registro de temperatura e pressão;
- Chave de potência;

Figura 2.10 | Exemplos de autoclaves. A) autoclave de bancada, utilizada em pequenos estabelecimentos de saúde; B) autoclave de maior proporção; C) autoclave mais comumente encontrada nos laboratórios de pesquisa



Fonte: A) Maxlabor. Disponível em: <<http://www.maxlabor.com.br/autoclave-horizontal-de-bancada-linha-ab-25-a-60-litros.html>>. B) Ortosintese. <[http://www.ortosintese.com.br/2015A/autoclave\\_detalle.asp?idproduto=55](http://www.ortosintese.com.br/2015A/autoclave_detalle.asp?idproduto=55)>. C) Prismatec. <<http://www.prolab.com.br/equipamentos-para-laboratorio/autoclaves/autoclave-vertical-digital-para-laboratorio>>. Acessos em: 29 out. 2017.

Para que os esporos bacterianos sejam eliminados é preciso uma temperatura mais alta que a de fervura da água (100 °C). Assim, aumentando-se a pressão, é possível obter uma temperatura mais elevada. É baseado nesse princípio que a autoclave funciona, uma vez que a câmara da autoclave, onde são armazenados os materiais a serem esterilizados, atinge uma pressão de 15lb/pol<sup>2</sup>, o que faz com que a temperatura do vapor de água atinja 120 °C. Quando o sistema atinge essa pressão e temperatura é necessário aguardar o processo de 15 a 20 minutos. Esse método é suficiente para eliminar até mesmo esporos muito resistentes, como os da bactéria *Clostridium botulinum*, famoso causador do botulismo.

### Calor seco

Para que a esterilização por calor seco seja eficiente, é necessária a aplicação de uma temperatura mais elevada e um processo mais longo. Isso porque, no caso do calor úmido, o próprio vapor de água auxilia no rompimento das ligações não covalentes, como as pontes de hidrogênio que estruturam as proteínas. Por isso, a esterilização por calor seco utiliza estufas de esterilização – também chamada de

forno de Pasteur – que atingem temperaturas na faixa de 180°C com um tempo de esterilização de 2 horas. Geralmente, esse processo é aplicado na esterilização de vidrarias, metais e materiais que não podem ser esterilizados por vapor e que são resistentes a essas temperaturas. Assim como o processo de autoclavagem, o material deve ser preparado corretamente para que, ao final do processo de esterilização, não entrem em contato com o ambiente não estéril.

### **Radiação por ionização**

Nesse processo, os materiais são expostos à radiação ionizante, que pode ser do tipo gama (de Cobalto 60) ou através de feixes de elétrons submetidos a um acelerador de elétrons. Esse tipo de radiação ionizante causa mutações no DNA e aumento da carga elétrica celular dos microrganismos, impossibilitando sua replicação. Assim como a esterilização por gases é um método muito perigoso e também deve ser realizado apenas por pessoal treinado e sempre pautado pelas normas de segurança. Esse método aplica-se a produtos farmacêuticos, dispositivos médicos em embalagens finas e materiais descartáveis.

### **Gás**

Esse tipo de esterilização utiliza a propriedade de alcalinização de proteínas, DNA e RNA, que algumas substâncias altamente voláteis possuem, como o óxido de etileno. Essa metodologia é importante no caso de materiais sensíveis ao calor, como alguns instrumentos cirúrgicos e plásticos, por exemplo. Esse procedimento só deve ser realizado por pessoas especializadas, uma vez que se trata de substância com potencial carcinogênico, mutagênico e genotoxicidade, além de suas propriedades inflamáveis e explosivas. Por essas características, esse método é utilizado apenas quando as outras opções não são viáveis.

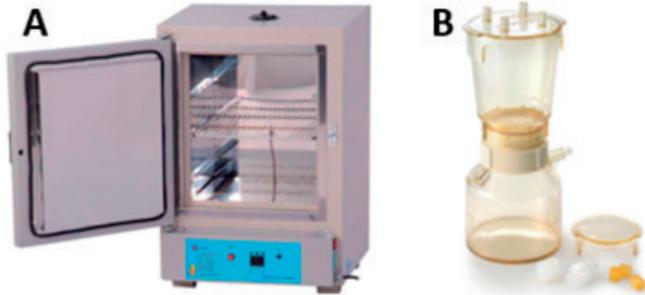
### **Filtração**

Esse método é aplicado para a esterilização de soluções que contêm ingredientes termolábeis, como vitaminas, antibióticos, açúcares, aminoácidos etc. São utilizados filtros com a capacidade de reter bactérias e esporos, como membranas de celulose, policarbonato, plásticos, cerâmica, vidros, entre outros materiais.

As membranas filtrantes mais utilizadas são feitas de nitrocelulose e apresentam poros de 0,22µm (ou menos). A retenção de partículas

maiores se dá fisicamente por impedimento, e de partículas menores pode ocorrer devido à atração eletrostática das partículas dos filtros.

Figura 2.11 | A) Estufa de esterilização; B) exemplo de sistema de esterilização por filtração



Fonte:

A) Quimis. Disponível em: <<http://www.quimis.com.br/equipamentos-laboratorio/estufa-esterilizacao-e-secagem>>. Acesso em: 28 out. 2017.

B) Capitol Scientific. <<http://www.capitolscientific.com/MilliporeSigma-XX1104710-Sterifil-47mm-Vacuum-Filter-Holder-with-250mL-Integrated-Funnel>>. Acesso em: 28 out. 2017.



**Refleta**

Pensando em todos os grupos já estudados em microbiologia, você acredita que o método de esterilização por filtração é capaz de eliminar todos os agentes contaminantes?

## Preparo de meios de cultura

O médico e bacteriologista alemão Robert Koch (1843-1910) foi o primeiro cientista a cultivar bactérias em meios de cultura sólidos, substituindo as arcaicas fatias de batata. Posteriormente, em 1887, o bacteriologista alemão Richard Petri (1853-1921) aprimorou a técnica de cultivo de Koch criando placas transparentes de dupla face extremamente úteis, as famosas placas de Petri. Assim, até hoje esse método de cultivo é amplamente utilizado e muitíssimo útil no estudo bacteriano, pois, dentre inúmeras vantagens, permite a prática visualização, contagem e estudo das colônias e suas características macroscópicas.

Os meios de cultura têm como principal função o fornecimento dos nutrientes adequados para a manutenção de microrganismos. Cada grupo de microrganismos possui necessidades nutricionais

específicas e condições físicas adequadas para seu crescimento. Por isso, é de se imaginar que existam diferentes tipos de meios de cultura que são classificados de acordo com:

### **a) Estado físico**

- Sólidos: apresentam um agente solidificante, geralmente o ágar.
- Semissólidos: de consistência intermediária com menor concentração de ágar. Permite certa motilidade do microrganismo.
- Líquidos ou caldos: são acondicionados em tubos de ensaio, não contém agente solidificante e geralmente são utilizados em culturas iniciais, para transferência ou em testes bioquímicos.

### **b) Constituição ou natureza**

- Naturais ou complexos: não apresentam constituição exata conhecida. Podem conter extratos de vegetais, caldo de carne, órgãos moídos, como cérebro, fígado etc.
- Sintéticos ou quimicamente definido: têm constituição química conhecida tanto qualitativamente quanto quantitativamente. Em geral, é mais criterioso e usado no cultivo de microrganismos específicos para diagnósticos e pesquisa.

### **c) Finalidade**

- Meios enriquecidos: contêm suprimento específico adicionado à constituição básica do meio nutritivo. Geralmente são específicos para organismos-alvo. Exemplo: ágar sangue (enriquecido com 5% de hemácias de carneiro).
- Meios seletivos: contêm substâncias que inibem o crescimento de certos organismos, mas permitem o crescimento do microrganismo desejado. Exemplo: MacConkey, que inibe o crescimento de bactérias Gram-positivas.
- Meios diferenciais: permitem a diferenciação dos microrganismos através de sinais metabólicos visíveis, como a, a mudança de cor do meio de cultura. Exemplo: no ágar manitol salgado, o *Staphylococcus aureus* converte a cor do meio de rosa para amarelo.

- Meios de identificação: semelhantes aos diferenciais, são utilizados em testes bioquímicos para identificação de um grupo específico de microrganismos. Exemplo: caldo SIM (Sulfito de Hidrogênio, Indol e Motilidade), que contém triptofano, que é convertido em indol por enterobactérias como *Escherichia*, *Salmonella* e *Shigella*.

O procedimento de preparo de meios de cultura geralmente é muito simples. Basicamente, são seguidos os seguintes passos:

- Pesar o ágar (pó) e transferir para um béquer ou erlenmeyer.

- Medir o volume de água destilada ou deionizada em uma proveta e adicionar apenas uma pequena quantidade para umedecer o pó e ir adicionando o restante aos poucos para não empelotar. Homogeneizar com movimentos circulares ou utilizando agitador magnético.

- Aquecer em micro-ondas ou em bico de Bunsen o recipiente contendo o meio. Utilizar luvas térmicas e os equipamentos de proteção necessários. Agitar a solução periodicamente e jamais deixar a solução atingir a fervura.

- Esterilizar os meios por autoclave (15 minutos a 121 °C) ou filtrá-los.

- A distribuição dos meios (tubos ou placas de Petri) pode ser feita antes ou depois do processo de esterilização.

- Como controle de qualidade, ao final do preparo, é necessário separar uma alíquota do meio e mantê-la em incubadora a 35 °C por 24 horas. Após esse período, não deve haver nenhum tipo de alteração no meio para assegurar que o lote preparado está válido para uso.

- Como controle de crescimento, utiliza-se cepas de referência que após inoculação e incubação adequadas deve apresentar leitura positiva.



Tabela 3.1 | Principais meios de cultura normalmente utilizados e suas funções

Nome do Ágar	Bactéria Isolada neste Ágar	Função ou Propriedades deste Ágar
Sangue	Várias bactérias	Detecta hemólise
Bordet-Gengou	<i>Bordetella pertussis</i>	Concentração de sangue aumentada permite o crescimento
Extrato de carvão-levedura	<i>Legionella pneumophila</i>	Aumento da concentração de ferro e cisteína permite o crescimento
Chocolate	<i>Neisseria meningitidis</i> e <i>Neisseria gonorrhoeae</i> de sítios estéreis	Aquecimento do sangue inativa os inibidores do crescimento
Chocolate mais fatores X e V	<i>Haemophilus influenzae</i>	Fatores X e V são necessários para o crescimento
Gema de ovo	<i>Clostridium perfringens</i>	Lectinase produzida pelo organismo degrada a gema do ovo para produzir um precipitado insolúvel
Azul de metileno-rosina	Vários bacilos entéricos Gram-negativos	Seleciona de bactérias Gram-positivas e diferencia entre fermentadores e não-fermentadores de lactose
Löwenstein-Jensen	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Seleciona de bactérias Gram-positivas da flora do trato respiratório e contém lipídeos necessários ao crescimento
MacConkey	Vários bacilos entéricos Gram-negativos	Seleciona de bactérias Gram-positivas e diferencia entre fermentadores e não-fermentadores de lactose
Telurito	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Metabolização do telurito dá uma coloração negra ao meio
Thayer-Martin	<i>N. gonorrhoeae</i> de sítios não-estéreis	Ágar-chocolate com antibióticos para inibir o crescimento da flora normal
Ferro e três açúcares (TSI)	Vários bacilos entéricos Gram-negativos	Distingue os fermentadores dos não-fermentadores de lactose e produtores e não-produtores de H <sub>2</sub> S

Fonte: Levinson e Jawetz (2005, p. 67).

## Técnicas de inoculação em meios de cultura

As técnicas de inoculação – também conhecidas como sementeiras – devem sempre acompanhar as seguintes normas, independentemente do tipo de meio de cultura utilizado:

- As agulhas ou alças de platina devem ser flambadas adequadamente (rubro da chama esterilizante) antes e depois de qualquer inoculação. Deve-se aguardar o resfriamento antes da coleta.

- Os recipientes devem ser abertos sempre próximos ao bico de Bunsen. A zona de segurança (região estéril) tem um raio de aproximadamente 10 cm em torno da chama.

- As bocas dos tubos devem ser aquecidas depois e antes da colocação da tampa, assim como a borda das placas de Petri.

Evite “rasgar” ou perfurar o meio para não interferir no crescimento bacteriano.

Os procedimentos de inoculação variam de acordo com o tipo de meio:

**a) Meio líquido:** destampe o tubo, retire uma porção da amostra e feche-o. Destampe o tubo novo, introduza a alça até aproximadamente  $\frac{1}{4}$  de profundidade do meio e feche o tubo.

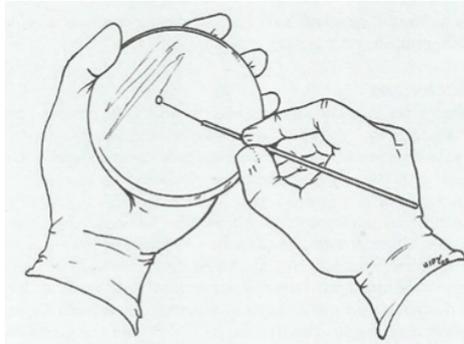
**b) Meio sólido em tubo inclinado:** destampe o tubo, retire uma porção da amostra e feche-o. Introduza a alça até a base da superfície do meio inclinado e, em movimento “zigue-zague” passe-a ao longo da superfície e feche o tubo.

**c) Meio sólido (semeadura por esgotamento):** abra o tubo ou placa e retire uma porção de amostra. Abra a placa nova, divida-a visualmente em dois ou três setores e deposite a amostra marginalmente em um ponto da superfície do meio. A partir desse ponto, espalhe a amostra em zigue-zague no setor 1, em seguida no setor 2, e por fim, no setor 3. Assim, a amostra é semeada em quantidades progressivamente menores, facilitando o isolamento das colônias.



**Assimile**

Figura 2.12 | Inoculação ou semeadura em placa de ágar



Fonte: Burton e Engelkirk (2005, p. 163).



**Pesquise mais**

Assista aos vídeos ilustrativos de preparo de meios de cultura e inoculação de amostras:

- Kasvi – Produtos laboratoriais: microbiologia - cultivo de microrganismo

em placa Petri. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=xJannNQPor>>. Acesso em: 31 out. 2017.

- Pipetando: Principais meios de cultura. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=y-Kq161PbY8>>. Acesso em: 31 out. 2017.

- Pipetando: Técnicas de semeadura. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=PqPKFF4OOsU>>. Acesso em: 31 out. 2017.

## Sem medo de errar

João precisa auxiliar seus colegas do setor de esterilização. Mesmo não dominando o assunto, estudioso como é, ele recorreu aos manuais de esterilização para entender o objetivo e as aplicações de cada um dos métodos utilizados. Assim, organizou uma lista dos materiais a serem separados para cada um dos quatro tipos de esterilização realizados na empresa, apontando as razões pelas quais agrupou-os daquela maneira:

Método de esterilização	Materiais
Calor úmido (autoclave)	Béqueres, erlenmeyer, frascos de vidro de armazenamento, pipeta Pasteur de vidro, placas de Petri de vidro, meios de cultura simples, tubos de ensaio. Razão da escolha: por atingir altas temperaturas e pressão, a autoclave deve ser utilizada para equipamentos que suportem essa condição. Além disso, os materiais devem ser adequadamente embalados antes do procedimento.
Calor seco (estufa de esterilização)	Tesouras, pinças metálicas, pipeta Pasteur de vidro, placas de Petri de vidro, tubos de ensaio. Razão da escolha: também é utilizado para temperaturas altas e pode ser utilizado para alguns materiais de vidro. Materiais metálicos são esterilizados preferencialmente por esse método para que não enferrujem e nem percam o corte.
Gás (óxido de etileno)	Placas de Petri de plástico, pipetas graduadas, pipetas volumétricas, provetas. Razão da escolha: o método é utilizado para materiais que não são resistentes ao calor ou que podem ter sua funcionalidade alterada. Materiais utilizados para medição de volumes citados, quando submetidos ao calor, podem perder sua exatidão.

Filtração	Meios de cultura contendo enzimas termolábeis. Razão da escolha: como os meios em questão contém ingredientes termolábeis, a esterilização em autoclave fica inviável. Por isso, a utilização da filtração é a forma mais segura de preservar suas propriedades.
-----------	--

Dessa maneira, João ampliou seus conhecimentos em microbiologia e ainda pôde contribuir com seus colegas de trabalho.

## Avançando na prática

### Procedimento certo na hora errada

#### Descrição da situação-problema

Agora que João também conhece os procedimentos de esterilização, ele foi convocado para substituir um dos técnicos desse setor que saiu de férias. A principal função de João durante esse período é observar o trabalho do novo estagiário, Dudu, e auxiliá-lo em suas dúvidas. Bastou o primeiro dia de trabalho no novo setor para João enfrentar seu primeiro desafio: um lote inteiro de meio de cultura está contaminado. Vamos ajudar nosso colega João e o estagiário Dudu a investigar o que pode estar ocorrendo de errado com o processo de autoclavagem e de que forma eles podem verificar se o processo foi eficiente?

Dica: João achou estranho quando viu que Dudu colocou na autoclave os frascos "estéreis" utilizados para o preparo do meio de cultura com suas tampas super apertadas.

#### Resolução da situação-problema

Ao refletir sobre os possíveis erros procedimentais de Dudu, João lembrou que o método de autoclavagem utiliza o calor úmido para esterilização. Dessa maneira, uma vez que o processo foi iniciado com as tampas fechadas, o interior do recipiente não entrou em contato com o vapor quente esterilizante. Por isso, provavelmente, o interior dos frascos ainda continha esporos bacterianos, o que causou a contaminação do meio de cultura. Assim, João explicou a Dudu que ele deve deixar as tampas de todos os recipientes a serem autoclavados levemente encaixadas para que o vapor úmido possa

adentrá-los. E, claro, antes de retirar os frascos da autoclave, as tampas devem ser rapidamente fechadas para garantir a esterilização. Outro procedimento que Dudu não sabia fazer era com relação ao controle de qualidade. Assim, o estudioso João explicou que, como controle de qualidade, ao final do preparo de qualquer meio de cultura, é necessário separar uma alíquota e incubá-lo a 35 °C por 24 horas. Não havendo nenhum tipo de alteração no meio, o lote está válido para uso.

## Faça valer a pena

**1.** Em microbiologia existem vários procedimentos utilizados para a eliminação de microrganismos. No entanto, para que seja considerado um método de esterilização, um certo tipo de agente deve ser obrigatoriamente eliminado pelo processo. Caso contrário, ainda que todos os agentes sejam eliminados, se esse em específico ainda estiver presente, o método não é considerado como sendo de esterilização.

Qual das alternativas abaixo contém esse agente?

- a) Vírus.
- b) Esporo bacteriano.
- c) Fungo.
- d) Enterobactérias.
- e) HIV.

**2.** A escolha dos procedimentos de esterilização de materiais e produtos varia, entre outros fatores, com a constituição e característica do material a ser esterilizado. Dessa forma, considere a tabela a seguir:

Método de esterilização	Materiais
Calor úmido	I
Calor seco	II
Radiação ionizante	III
Filtração	IV

Selecione a alternativa que contém os materiais mais indicados para cada tipo de esterilização.

- a) I – Frasco de vidro; II – meio de cultura; III – placa de Petri plástica; IV – solução salina.
- b) I – Placa de Petri plástica; II – tesoura metálica; III – frasco de vidro; IV – meio de cultura simples.

- c) I – Frasco de vidro; II – tesoura metálica; III – placa de Petri plástica; IV – meio de cultura simples.
- d) I – Tesoura metálica; II – frasco de vidro; III – placa de Petri plástica; IV – meio de cultura simples.
- e) I – Pipeta graduada; II – frasco de vidro; III – placa de Petri plástica; IV – solução salina.

**3.** A principal finalidade dos meios de cultura é o fornecimento de nutrientes adequados para o crescimento de microrganismos. No entanto, para cada finalidade dentro do campo microbiológico, são utilizados meios específicos. Nesse sentido, o que são meios seletivos?

- a) São meios que contém proteínas selecionadas.
- b) São meios que permitem a diferenciação e microrganismos através da mudança de cor.
- c) São meios como o SIM, onde o triptofano é convertido em indol.
- d) São meios semeados por esgotamento.
- e) São meios de cultura que inibem o crescimento de certos microrganismos e permitem o crescimento de outros.

# Referências

ABCMED. Disponível em: <<http://www.abc.med.br/p/vida-saudavel/526509/fungos-como-sao-eles-podem-causar-doencas-como-evita-las.htm>>. Acesso em: 17 out. 2017.

BROOKS, G. F. et al. **Microbiologia médica de Jawetz, Melnick e Adelberg**. 25. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.

BURTON, G. R. W.; ENGELKIRK, P. G. **Microbiologia para as ciências da saúde**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

FIORAVANTI, Carlos. O ataque silencioso dos fungos. **Revista Pesquisa Fapesp**, São Paulo, n. 243, p. 43-45, maio 2016. Disponível em: <<http://revistapesquisa.fapesp.br/2016/05/19/o-ataque-silencioso-dos-fungos/>>. Acesso em: 17 out. 2017.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Sistema de informação em biossegurança**. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/StartBIS.htm>>. Acesso em: 18 out. 2017.

LEVINSON, W.; JAWETZ, E. **Microbiologia médica e imunologia**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

# Sistema imunológico e mecanismos das respostas imunes

## Convite ao estudo

Nesse ponto do caminho, já conhecemos os agentes patogênicos que podem influenciar o nosso organismo tanto de forma negativa – causando doenças – quanto positiva – flora normal. A partir de agora, abriremos a porta de um novo assunto, que vai nos ajudar a compreender como o nosso corpo lida tanto com potenciais patógenos quanto outros fatores estranhos ao nosso organismo. Iniciaremos agora a Imunologia, ou seja, o estudo do sistema imunológico e suas inúmeras e complexas funções. Abordaremos o sistema de defesa do nosso corpo contra agentes estranhos – os chamados antígenos – e os componentes desse complexo processo que engloba a relação entre mediadores químicos, células e tecidos. É a compressão dos atores e dos diferentes processos imunológicos que permitiram – e ainda corroboram – o desenvolvimento de vacinas, tratamentos e a prevenção para doenças até então sem solução, como alergias, doenças autoimunes etc. Ao final desta unidade, você terá conhecido a complexidade das reações imunológicas, sendo capaz, inclusive, de elaborar uma tabela com as diferenças entre imunidade inata, adquirida, celular e humoral. Além disso, também saberá sobre as características, implicações e tratamentos da autoimunidade. Nesse contexto de complexidade, para os estudantes da área de saúde é muito importante que haja dedicação no estudo da imunologia, pois existem inúmeros elementos que precisam ser estudados e compreendidos para que o entendimento dos processos imunológicos seja pleno. Dessa maneira, o profissional da área será capaz de atuar em diferentes áreas relacionadas, como o estudo das respostas imunológicas, a compreensão

de doenças relacionadas e até mesmo o desenvolvimento de novos medicamentos e vacinas. Nesse cenário, Ana Clara sempre foi apaixonada pela Imunologia, no entanto, ainda tem dificuldades para compreender alguns aspectos dessa disciplina. Como está caminhando para o final do seu curso de Biologia e tem intenção de trabalhar nessa área, ela está bem preocupada com os desafios que as provas e trabalhos de imunologia vêm trazendo para ela, que precisa dividir o tempo entre os estudos e o estágio numa empresa farmacêutica. Ana Clara sempre foi muito esforçada e aplicada. Ela sabe que os desafios são parte do amadurecimento profissional e está disposta a melhorar e aprender cada vez mais, uma vez que quer contribuir muito para sociedade. Assim como Ana Clara, você já refletiu sobre a importância da imunologia para a sociedade? Já imaginou como as doenças poderiam dizimar nações inteiras sem o uso de vacinas e medicamentos? Pois é! O conhecimento obtido em anos de imunologia tem proporcionado o desenvolvimento de produtos essenciais para a população mundial, além de fornecer ferramentas para a compreensão de outros processos como a autoimunidade, alergias e até mesmo o câncer. Assim como em outras etapas de nosso estudo, construiremos nosso conhecimento em seções. Na primeira delas, estudaremos os principais tipos de linfócitos e seu papel dentro do equilíbrio imunológico do corpo humano, bem como as imunoglobulinas e um tipo de processo imunológico chamado de reação de hipersensibilidade. Na Seção 3.2, abordaremos os quatro principais aspectos da imunidade: inata, adquirida, celular e humoral. E em nossa última seção, o assunto será a autoimunidade, a qual caracterizaremos estudando suas implicações e tratamentos. A imunologia é uma ciência linda que nos mostra o quão orquestrado é o nosso organismo e como é importante a manutenção desse equilíbrio para que toda a nossa fisiologia se mantenha estável e colaborando para o nosso bem-estar. Vamos comigo entrar nesse novo mundo?

# Seção 3.1

## Imunoglobulinas

### Diálogo aberto

Ana Clara, nossa colega apaixonada por Imunologia, tem um novo desafio: o professor de Imunologia, com o objetivo de auxiliar a turma de Biologia na preparação para as provas finais, sorteou diversos temas entre os alunos. Assim, cada um precisa apresentar um quadro explicativo sobre o tema sorteado mostrando uma visão geral do assunto. Ana Clara foi sorteada com um dos assuntos mais complexos em Imunologia: células do sistema imunológico. Ela está muito aflita, pois sabe que esse campo é muito amplo e não quer esquecer de apresentar nenhum aspecto importante. Como podemos auxiliar nossa colega na elaboração dessa apresentação? Pensando nos principais aspectos que esse quadro explicativo deve apresentar, vamos trabalhar juntos?

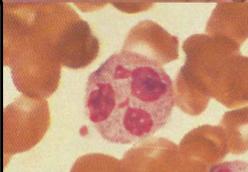
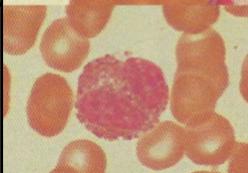
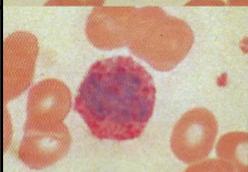
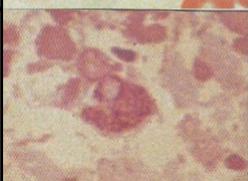
### Não pode faltar

O sistema que garante o equilíbrio imunológico do nosso corpo é tão complexo quanto encantador. Para construirmos juntos o conhecimento em imunologia vamos abordar os componentes desse sistema estudando suas principais características. Para que o sistema imune consiga combater de forma eficiente os patógenos e exercer suas funções protetivas de forma eficaz, existe uma dependência das propriedades das células e tecidos componentes da resposta imunológica. Por isso, começaremos nossa viagem imunológica conhecendo os principais elementos celulares e humorais que batalham para manter o equilíbrio fisiológico frente a doenças ou reações adversas que também serão tratadas em nossa abordagem.

Tanto as células do sistema imune inato quanto as células do sistema adaptativo encontram-se como células circulantes no sangue e na linfa, em forma de aglomerados (órgãos linfoides), e espalhadas praticamente em todos os tecidos. De acordo com a célula progenitora, as células podem ser **mieloídes** ou **linfoides**.



Figura 3.1| Células mielóides na imunidade inata e adaptativa e suas funções

<p>Macrófago</p> 		<p>Fagocitose e ativação de mecanismos bactericidas</p> <p>Apresentação de antígeno</p>
<p>Célula dendrítica</p> 		<p>Captura do antígeno nos locais periféricos</p> <p>Apresentação de antígenos nos linfonodos</p>
<p>Neutrófilo</p> 		<p>Fagocitose e ativação de mecanismos bactericidas</p>
<p>Eosinófilo</p> 		<p>Morte de parasitas recobertos por anticorpos</p>
<p>Basófilo</p> 		<p>Desconhecida</p>
<p>Mastócito</p> 		<p>Liberação de grânulos contendo histamina e outros agentes ativos</p>

Fonte: adaptado de Janeway et al. (2002, p. 25)

Como o próprio nome já diz, o progenitor linfoide dá origem aos **linfócitos**. São aproximadamente 1 trilhão de linfócitos em nosso corpo, o que corresponde até 40% dos leucócitos do organismo e 99% das células da linfa. Como eles são as principais células da imunidade adquirida, eles expressam receptores de antígenos para uma infinidade de antígenos que são distribuídos clonalmente. Assim, essas células são responsáveis por reconhecer e responder especificamente a antígenos estranhos e atuam, portanto, como mediadores da imunidade humoral e celular.

De acordo com sua função e seus componentes de membrana citoplasmática, os linfócitos são subdivididos em três principais populações: **células NK**, **células B** e **células T**. As células NK (*Natural Killer*), ou “assassinas naturais”, são grandes, granulares e não apresentam os marcadores de superfície característicos das células B e T. Elas têm como principal função a destruição citotóxica de células infectadas por vírus ou de células lesadas. Os linfócitos B e T diferem basicamente em suas funções que estão ligadas aos seus produtos proteicos e a forma como reconhecem antígenos. A seguir, aprofundaremos nossos estudos sobre essas células.



### Exemplificando

Entenda melhor a seleção e distribuição clonal dos linfócitos no vídeo:

Casa das ciências – Teoria da seleção clonal. Disponível em: <[https://www.youtube.com/watch?v=yzcl9r\\_KIP4](https://www.youtube.com/watch?v=yzcl9r_KIP4)>. Acesso em: 9 nov. 2017.

## Linfócitos B

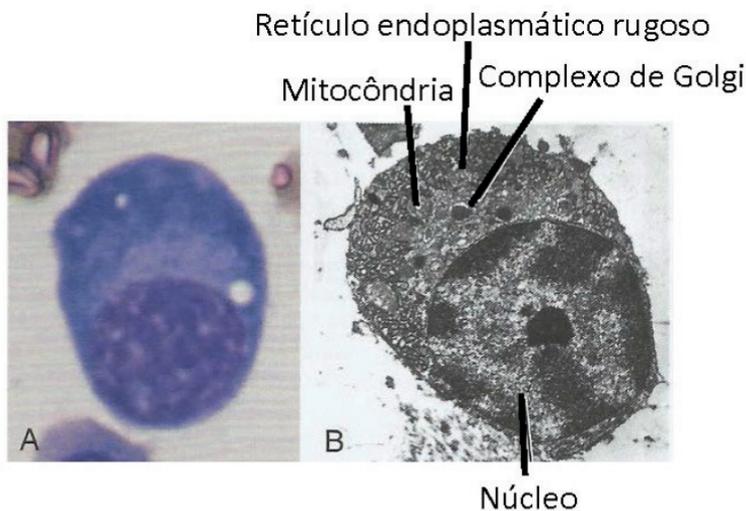
Os linfócitos B, ou células B, são conhecidos por sua capacidade de produzir **anticorpos (imunoglobulinas)**. Elas reconhecem antígenos extracelulares e vão se diferenciar em plasmócitos secretores de anticorpos, mediando assim a resposta imune humoral. Essas células sofrem maturação na medula óssea e, após esse processo, os linfócitos B “maduros” sintetizam e expressam moléculas de imunoglobulinas ligadas à membrana celular, que atuarão como receptores de antígenos. São mais de  $1,5 \times 10^5$  moléculas em cada célula B com sítio de ligação idênticos para um determinado antígeno.

Antes de encontrar um antígeno pela primeira vez, tanto as células B, quanto as T são chamadas de **linfócitos naíve** ou **virgens**. Essas

células estão em repouso, ou seja, em fase G0 do ciclo celular. No organismo, as células permanecem em um número razoavelmente constante até que recebam algum estímulo, isto é, até que encontram pela primeira vez um antígeno, que é quando entram na fase G1 do ciclo celular antes de se dividirem. Dessa maneira, quando o antígeno se liga ao anticorpo, ocorre a ativação do linfócito com uma rápida divisão celular daquele clone específico, denominada expansão clonal. Isso é muito importante, uma vez que muitos patógenos se multiplicam rapidamente, sendo necessário um grande exército de linfócitos para combatê-los.

As células produzidas diferenciam-se em **células B efetoras (plasmócitos) e células B de memória**. O segundo grupo possui uma vida mais longa e expressam em sua membrana os mesmos antígenos da célula B parental. Já os plasmócitos possuem poucos ou mesmo nenhum anticorpo ligado à sua superfície, e tem como principal função a secreção de anticorpos. Para executar essa função, essas células apresentam citoplasma abundante com retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvido, visto sua alta síntese de anticorpos (proteínas). Também apresenta diferentes complexos de Golgi perinucleares nos quais os anticorpos são maturados e acondicionados nas vesículas de secreção.

Figura 3.2| Morfologia de plasmócitos. A) Micrografia de luz. B) Micrografia eletrônica



Fonte: adaptado de Abbas, Lichtman e Pillai (2011, p. 25)

## Linfócitos T

Os linfócitos T, ou células T, são responsáveis pela mediação da resposta imune celular. Seus precursores são produzidos na medula óssea e migram para serem maturados no Timo, daí a denominação como linfócitos "T". No timo, os linfócitos T passam a expressar uma molécula ligante de antígeno específica chamada de **receptor de célula T** (TCR). Essas moléculas não são como os anticorpos dos linfócitos B, pois não são capazes de reconhecer antígenos livres. Os receptores de células T interagem apenas com antígenos ligados a proteínas chamadas de moléculas do **complexo de histocompatibilidade principal**, conhecidas como MHC. Essas moléculas são glicoproteínas geneticamente diversas encontradas nas membranas celulares e podem ser de dois tipos:

- MHC classe I: moléculas expressas por quase todas as células nucleadas de vertebrados.
- MHC classe II: moléculas expressas apenas por **células apresentadoras de antígenos** (APCs).

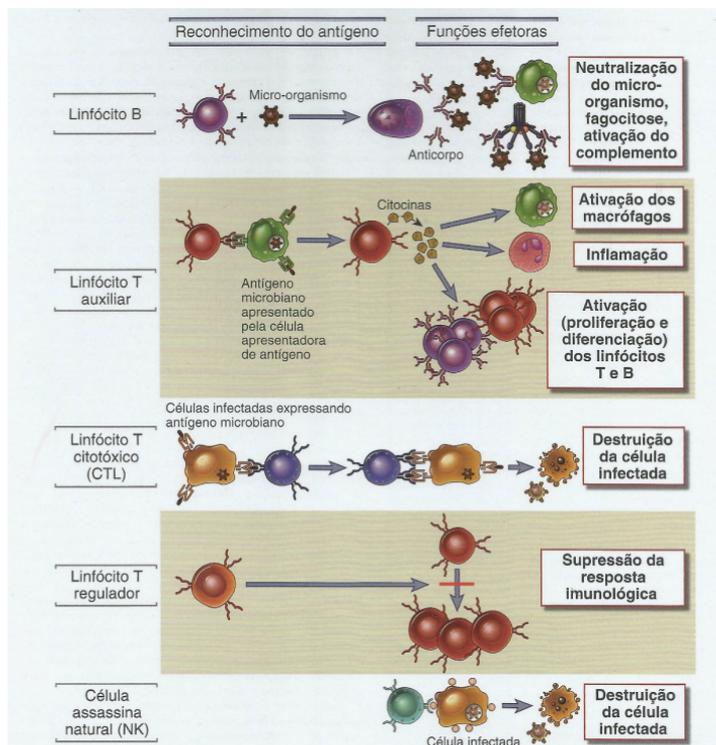
As APCs, como macrófagos e neutrófilos, internalizam o antígeno e apresentam uma parte dele ligada ao MHC II da sua membrana para os linfócitos T. Esses, por sua vez, proliferam e se diferenciam, assim como as células B, em **células T efectoras** e **células T de memória**. O segundo grupo pode viver por muitos anos podendo ser reativado rapidamente para combater um invasor já conhecido do sistema imune.

As células T são subdivididas em duas populações principais. As **células T auxiliares** (TH) possuem a glicoproteína de membrana CD4. Quando essas células se diferenciam em células TH efectoras, elas auxiliam na ativação de células B, **células T citotóxicas** (TC), fagócitos e outras células que participam da resposta imunológica. Algumas das células TH tornam-se células T de memória. Já as células T citotóxicas (TC) apresentam a glicoproteína de membrana CD8. Os linfócitos T citotóxicos são capazes de causar morte celular ou induzir atividade citotóxica. São essenciais no monitoramento das células do corpo e na eliminação de qualquer célula que apresente um antígeno, células infectadas, células tumorais ou células de tecidos estranhos aquele organismo.

Também existem as **células T reguladoras** (Treg) que, além de apresentar CD4 em sua membrana, possui o marcador CD25. Essas células suprimem a resposta imune, ou seja, são reguladoras negativas

do sistema imunológico. Nas próximas seções discutiremos os tipos de respostas imunológicas e qual o papel dos diferentes tipos de linfócitos em todo o processo.

Figura 3.3| Classes de linfócitos



Fonte: Abbas, Lichtman e Pillai (2011, p. 9)



Pesquise mais

Saiba mais sobre as classes de linfócitos consultando a Tabela 2-2 em ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. *Imunologia Celular e Molecular*. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011, p. 21.

## Imunoglobulinas

Conforme já citamos anteriormente, no sistema imune existem três tipos de moléculas reconhecedoras de antígenos: **imunoglobulinas, receptor de linfócitos T e moléculas de MHC.**

Assim, as imunoglobulinas (**Ig**), popularmente conhecidas como anticorpos, são moléculas que podem tanto estar ligadas a membranas da superfície de linfócitos B (receptores de antígenos) quanto serem secretadas na circulação, tecidos ou mucosas.

Durante a fase efetora da resposta imune humoral, os anticorpos podem atuar de tais formas:

- neutralização dos microrganismos ou produtos microbianos tóxicos;
- ativação do sistema complemento;
- opsonização de patógenos contribuindo para o aumento da fagocitose e da toxicidade mediada por células dependentes de anticorpos;
- ativação de mastócitos mediada por anticorpos que elimina vermes e parasitas.



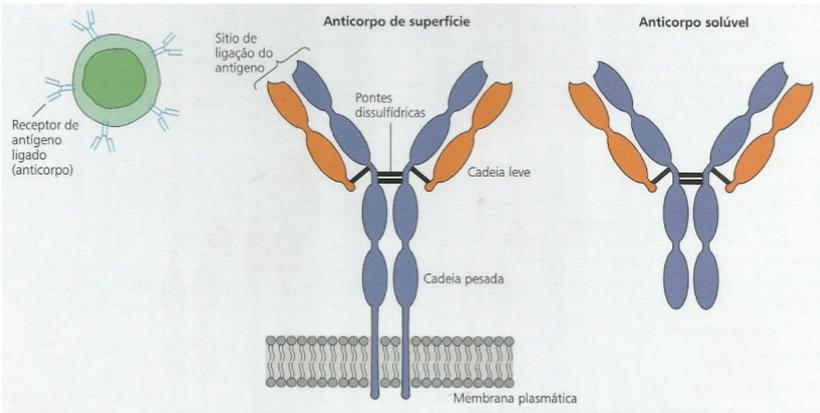
### Assimile

A opsonização é como se fosse uma seta apontando as células infectadas e que devem ser destruídas. Nesse processo, as células infectadas, os microrganismos ou outras partículas são recobertas por anticorpos ou outros fatores (opsoninas) para que sejam preparados para o reconhecimento e eliminação pelos fagócitos.

As imunoglobulinas são **heterodímeros**, ou seja, apresentam uma estrutura básica comum com quatro cadeias peptídicas, sendo **duas cadeias idênticas leves e duas cadeias idênticas pesadas**. Essas cadeias apresentam unidades homólogas repetidas com cerca de 110 resíduos de aminoácidos cada uma. Essas cadeias se dobram de forma independente em estrutura globular denominada **domínio Ig**. Essas regiões apresentam pouquíssimas variações entre os diferentes anticorpos e são responsáveis pelas funções efetoras e propriedades físico-químicas comuns dessas moléculas.

O **sítio de ligação do antígeno** apresenta enorme variabilidade e é responsável pela capacidade de diferentes anticorpos se ligarem a um grande número de antígenos estruturalmente diversos. Estima-se que o repertório de anticorpos pode chegar a mais de 1 milhão em cada pessoa, isso significa, mais de 1 milhão de sequências únicas de aminoácidos nos sítios de ligação com antígenos.

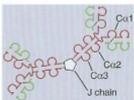
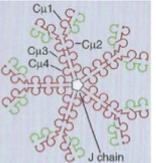
Figura 3.4| Estrutura do anticorpo (linfócito B)



Fonte: Abbas, Lichtman e Pillai (2011, p. 96)

As imunoglobulinas podem ser divididas em subclasses baseadas nas diferenças de regiões de sua cadeia pesada. Essas classes, também chamadas de **isótipos**, são: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM.

Figura 3.5 | Isótipos dos anticorpos humanos

Isótipo do anticorpo	Subtipos (Cadeia H)	Concentração Sérica (mg/mL)	Meia-vida Sérica (dias)	Forma Secretada	Funções
IgA	IgA1, 2 (α1 ou α2)	3,5	6	IgA (dímero) Monômero, dímero, trimero 	Imunidade de mucosa
IgD	Nenhum (δ)	Traço	3	Nenhuma	Receptor de antígeno do linfócito B virgem
IgE	Nenhum (ε)	0,05	2	IgE Monômero 	Defesa contra parasitas helmintos, hipersensibilidade imediata
IgG	IgG1-4 (γ1, γ2, γ3 ou γ4)	13,5	23	IgG1 Monômero 	Opsonização, ativação do sistema complemento, citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpo, imunidade neonatal, autoinibição do linfócito B
IgM	Nenhum (μ)	1,5	5	IgM Pentâmero 	Receptor de antígeno do linfócito B virgem, ativação do sistema complemento

Fonte: adaptado de Kindt, Goldsby e Osborne (2008, p. 37)



Imagine um bebê que acaba de nascer. Seus linfócitos praticamente não tiveram contato com antígenos até o momento. De que maneira o recém-nascido pode estar protegido de patógenos iniciais?



Aprofunde seus conhecimentos sobre os diferentes isótipos de imunoglobulinas em:

- KINDT, T. J.; GOLDSBY, R. A.; OSBORNE, B. A. *Imunologia de Kuby*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008, Capítulo 4.

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. *Imunologia Celular e Molecular*. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011, Capítulo 5.

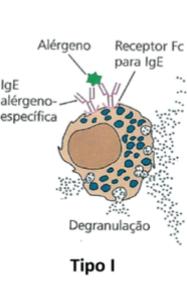
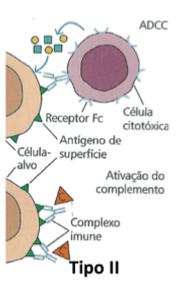
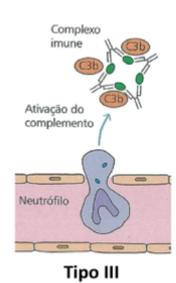
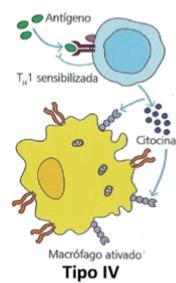
- *Medicina resumida – Antígeno e anticorpo*. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=0HmWzWVGz0s>>. Acesso em: 10 nov. 2017.

## Reações de hipersensibilidade

Sabe aquela alergia forte que as vezes nos tira o bem-estar? Pois bem, ela pode ser um tipo de reação de hipersensibilidade do nosso organismo. O termo **hipersensibilidade** faz referência a uma resposta imune inapropriada e nociva que pode levar a uma lesão tecidual. Essas reações podem se desenvolver ao longo da resposta imune humoral ou mediada por células. As reações que se iniciam por anticorpos ou pelo complexo antígeno-anticorpo, são chamadas de **hipersensibilidade imediata**, e os sintomas são exatamente assim: horas ou até mesmo poucos minutos após o contato com o antígeno. Por outro lado, as reações de **hipersensibilidade tardia** produzem sintomas até mesmo dias depois da exposição.

A Figura 3.6 mostra uma visão geral dos quatro tipos de respostas de hipersensibilidade.

Figura 3.6| Os quatro tipos de respostas de hipersensibilidade

 <p><b>Tipo I</b></p>	 <p><b>Tipo II</b></p>	 <p><b>Tipo III</b></p>	 <p><b>Tipo IV</b></p>
<p>Hipersensibilidade mediada por IgE</p>	<p>Hipersensibilidade citotóxica mediada por IgG ou IgM</p>	<p>Hipersensibilidade mediada por complexo imunológico</p>	<p>Hipersensibilidade mediada pela célula</p>
<p>Ag induz a ligação cruzada de IgE ligada a mastócitos e basófilos com liberação de mediadores vasoativos.</p>	<p>Ac direcionado contra antígenos de superfície celular medeia a destruição celular por meio de ativação do complemento ou ADCC.</p>	<p>Complexos Ag-Ac depositados em diversos tecidos induzem a ativação do complemento e seguem uma resposta inflamatória mediada pela infiltração massiva de neutrófilos.</p>	<p>Células T<sub>H1</sub> sensibilizadas mostradas acima liberam citocinas que ativam os macrófagos ou células T<sub>C</sub> que medeiam o dano celular direto. Células T<sub>H2</sub> e CTLs medeiam respostas similares.</p>
<p>Manifestações típicas incluem anafilaxia sistêmica localizada como febre do feno, asma, urticária, alergias alimentares e eczema.</p>	<p>Manifestações típicas incluem reações de transfusão sanguínea, eritroblastose fetal e anemia hemolítica auto-imune.</p>	<p>Manifestações típicas incluem reação de Arthus localizada e reações generalizadas como doença do soro, vasculite necrosante, glomerulonefrite, artrite reumatoide e lúpus eritematoso sistêmico.</p>	<p>Manifestações típicas incluem dermatite de contato, lesões tuberculares e rejeição de enxerto.</p>

Fonte: adaptado de Kindt, Goldsby e Osborne (2008, p. 401)

## Pesquise mais

Para conhecer mais sobre os conceitos imunológicos dos temas alergia e hipersensibilidade, estude as referências abaixo:

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011, Capítulo 18.
- KINDT, T. J.; GOLDSBY, R. A.; OSBORNE, B. A. **Imunologia de Kuby**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008, Capítulo 15.
- JANEWAY, C. A. et al. **Imunobiologia**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002, Capítulo 12.

## Sem medo de errar

A compreensão de assuntos complexos de uma disciplina pode ser um grande desafio quando estamos na graduação. Assim é a

Imunologia: apaixonante e igualmente complexa. Nesse cenário paradoxal está nossa colega Ana Clara, que precisa elaborar um quadro explicativo mostrando uma visão geral sobre o tema sorteado para ela: células do sistema imunológico. Assim, Ana Clara refletiu sobre os aspectos que não poderiam ficar de fora em sua breve apresentação e elaborou o seguinte quadro:

Quadro 3.1| Células do sistema imunológico

Tipo	Célula	Origem	Maturação	Função
Fagócitos (linhagem mieloide)	Basófilos	Medula óssea (progenitor mieloide)	Medula óssea	Expressam receptores para IgG e IgE e parecem ter papel em sítios inflamatórios e em reações alérgicas.
	Eosinófilos			Presentes, principalmente, nas mucosas dos tratos respiratório, gastrointestinal e geniturinário. Expressam e secretam enzimas danosas a parasitas.
	Neutrófilo			São os leucócitos mais abundantes na circulação e medeiam as fases iniciais das reações inflamatórias.
	Macrófago		Tecidos	Originam-se a partir de monócitos ativados e tem como principal função a ingestão e morte de microrganismos. Também ingerem células mortas do hospedeiro como parte do processo de limpeza pós-infecção ou lesão tecidual. Secretam citocinas com diferentes papéis nas respostas imunes e atuam como APC e ativam linfócitos T.
	Mastócito			Atuam em processos inflamatórios através da síntese e liberação de citocinas e histamina. Também são importantes na defesa contra helmintos.
Células dendríticas		Linfonodos	São as APC mais importantes para a ativação de células T naive, têm importante papel na resposta imune inata e adquirida.	

Linfócitos (linhagem linfoide)	Linfócito B	Medula óssea (progenitor linfoide)	Medula óssea	Reconhecem antígenos extracelulares através de anticorpos de superfície de membrana celular. Podem ser efetores (plasmócitos) ou de memória.
	Plasmócito		Contato com antígeno	É um tipo de linfócito B especializado na síntese e secreção de anticorpos que atuarão na resposta imune humoral.
	Linfócitos (linhagem linfoide) Linfócito B Plasmócito Linfócito T		Timo	São responsáveis por mediar a resposta imune celular. Possuem receptores de célula T, ou seja, reconhecem antígenos ligados ao MHC de células apresentadoras de antígenos.
	Célula Natural Killer		Tecidos	Elas têm como principal função a destruição citotóxica de células infectadas por vírus ou de células lesadas

Fonte: elaborado pela autora.

A explicação baseada no quadro auxiliou Ana Clara na fixação do conhecimento e esclareceu muitos aspectos do assunto aos seus colegas. O que você acha de fazer como Ana Clara e se reunir com seus colegas de classe para estudar imunologia?

## Avançando na prática

### Memória Imunológica

#### Descrição da situação-problema

Durante os estudos para as provas finais da disciplina de Imunologia, os assuntos complexos sempre podem gerar confusões conceituais entre os alunos. Ana Clara e mais dois colegas estavam estudando há horas na biblioteca da faculdade quando surgiu um impasse: João afirma que células de memória são linfócitos B e André jura que essas células são do tipo linfócitos T. Qual dos dois amigos de Ana Clara está certo? De que forma Ana Clara pode esclarecer a dúvida de seus colegas de classe?

#### Resolução da situação-problema

Ana Clara, lembrando-se das aulas de imunologia e de seus

estudos decretou: "você dois estão corretos!"

Os dois se entrelaçaram surpresos e ouviram com atenção a explicação de sua colega.

É graças às células de memória que nós temos a chamada **memória imunológica**. Esse termo é definido pela capacidade que nosso sistema imunológico tem de responder de forma rápida e efetiva aos patógenos que já foram encontrados anteriormente pelas células imunes. Isso é possível graças às populações clonais de linfócitos específicos para um determinado antígeno. Assim, quando o sistema imunológico se depara pela primeira vez com um agente desconhecido ocorre a chamada resposta imune primária, onde os linfócitos naive T e B naive são sensibilizados. A partir de então, de maneira clonal, há a produção das células efetoras e de memória, para ambos os tipos de linfócitos. Dessa forma, existem respostas secundárias, terciárias e assim por diante, de acordo com o número de vezes que ocorreu a exposição ao antígeno anteriormente. Portanto, existem tanto os linfócitos T de memória quanto os linfócitos B de memória, que tem uma vida mais longa que os linfócitos efetores e podem responder de maneira rápida a uma segunda exposição ao mesmo antígeno. A diferença está na forma como esses linfócitos vão atuar na resposta imunológica, uma vez que os linfócitos B medeiam a resposta imune humoral, enquanto os linfócitos T atuam mais efetivamente na resposta imune celular.

### Faça valer a pena

**1.** Existem, aproximadamente, 1 trilhão de linfócitos em nosso corpo que expressam receptores de antígenos para uma infinidade de antígenos que são distribuídos clonalmente. Nesse contexto, o que é expansão clonal?

Enunciado:

Selecione a alternativa correta.

- a) Aumento no número de linfócitos B, que expressam receptores idênticos para o antígeno.
- b) Aumento no número de linfócitos T, que expressam receptores idênticos para o antígeno.
- c) Realização de clonagem através de linfócitos maternos.
- d) Clonagem das células imunes de origem mieloide.
- e) Aumento no número de linfócitos que expressam receptores idênticos para o antígeno.

**2.** Observe as colunas abaixo:

1- Linfócito B	A- Síntese e secreção de anticorpos
2- Linfócito T citotóxico	B- Expressão de anticorpos de membrana
3- Linfócito T regulador	C- Expressão de MHC de classe II
4- Célula apresentadora de antígeno	D- Supressão da resposta imune
5- Plasmócitos	E- CD8 como glicoproteína de membrana

Selecione a alternativa que contém a correta combinação de colunas:

- a) 5-A, 1-B, 4-C, 3-D, 2-E
- b) 5-A, 1-B, 4-C, 3-E, 2-D
- c) 5-A, 1-C, 4-B, 3-D, 2-E
- d) 5-B, 1-A, 4-C, 3-E, 2-D
- e) 5-C, 1-A, 4-B, 3-E, 2-D

**3.** Popularmente conhecidas como anticorpos, as imunoglobulinas são moléculas que podem tanto estar ligadas a membranas da superfície de linfócitos B (receptores de antígenos) quanto serem secretadas na circulação, tecidos ou mucosas por plasmócitos. De que forma os anticorpos podem atuar durante a fase efetora da resposta imune humoral?

Selecione a alternativa correta:

- a) Multiplicação de mastócitos, aumento da expansão clonal e diminuição da fagocitose.
- b) Inibição da ação de mastócitos, diminuição da expansão clonal e aumento da fagocitose.
- c) Neutralização de microrganismos, opsonização de patógenos, aumento da fagocitose e ativação de mastócitos.
- d) Proliferação de microrganismos benéficos para o sistema imune, opsonização de patógenos, aumento da fagocitose e ativação de mastócitos.
- e) Neutralização de microrganismos, ativação de patógenos, aumento da fagocitose e multiplicação de mastócitos.

## Seção 3.2

### Imunidade

#### Diálogo aberto

Nossa colega “quase” bióloga está amando estudar os diferentes tipos de respostas imunes. Na última aula a professora abordou o tema imunidade adquirida humoral. No entanto, com uma turma tão participativa e curiosa como a de Ana Clara, a aula foi tão cheia de perguntas e participação dos alunos que faltou falar sobre a diferença quantitativa na resposta imune humoral. Assim, o professor solicitou que os alunos fizessem um pré estudo de como o organismo se comporta frente ao encontro de um antígeno pela segunda vez. Assim, Ana Clara ficou muito intrigada sobre como podemos classificar a qualidade e a quantidade da resposta imune humoral. Vamos ajudar Ana Clara a discutir esse ponto da matéria?

#### Não pode faltar

Exatamente nesse momento seu corpo está travando uma grande batalha contra invasores que podem deixá-lo muito doente e até mesmo levá-lo à morte. Mesmo que você não sinta nada, e mesmo que você não fique doente com frequência, isso não quer dizer que seu corpo não teve contato com diversos agentes patogênicos. Normalmente, os potenciais patógenos só vão nos causar alguma doença perceptível ocasionalmente, isso porque, em sua grande maioria, são detectados e destruídos rapidamente pelo nosso mecanismo de defesa

Figura 3.7 | A resposta a uma infecção



Fonte: Janeway et al. (2002, p. 56).

Estudaremos agora os tipos de imunidade que nosso organismo utiliza para manter a fisiologia do corpo em equilíbrio, combatendo os potenciais elementos danosos para a nossa saúde.

## Imunidade inata

Quando um agente patogênico invade o organismo humano, a primeira linha de defesa que ele precisa transpor é a **imunidade inata**. Isso porque é essa defesa que está disponível para uma ativação imediatamente rápida antes mesmo de qualquer invasão, ou seja, tanto as células quanto as moléculas solúveis da imunidade inata já são plenamente funcionais ou são brevemente ativadas pelos patógenos – antes de uma resposta imune adaptativa, também conhecida como adquirida.

Uma das principais funções da imunidade inata está na **prevenção**, no **controle** ou na **eliminação** da infecção de vários patógenos, e são executados como primeira resposta a esses microrganismos. Esse papel é desempenhado graças às barreiras anatômicas, aos fagócitos residentes dos tecidos adjacente ao epitélio e aos fagócitos circulantes.

As **barreiras anatômicas** contra a invasão microbiana não são apenas **limitações mecânicas** para a penetração de microrganismos, mas uma base bioquímica de defesa já que sintetizam e preparam proteínas e enzimas com atividade antimicrobiana. Além disso, as barreiras epiteliais têm componentes **microbiológicos**, uma vez que a flora normal compete por nutrientes e por adesividade ao epitélio, além de produzir substâncias antibacterianas.



### Exemplificando

Figura 3.8 | Pele e barreiras epiteliais contra infecções

Órgão ou tecido	Mecanismo inato de proteção da pele/epitélio
<b>Pele</b>	Peptídeos antimicrobianos, ácidos graxos no sebo.
<b>Boca e canal alimentar superior</b>	Enzimas, peptídeos antimicrobianos e grande superfície com fluxo do fluido em direção ao estômago.
<b>Estômago</b>	pH baixo, enzimas digestivas, peptídeos microbianos, fluxo dos fluidos em direção ao intestino.
<b>Intestino delgado</b>	Enzimas digestivas, peptídeos antimicrobianos, fluxo dos fluidos em direção ao intestino grosso.
<b>Intestino grosso</b>	A flora intestinal normal compete com o micróbio invasor, fluidos/fezes expelidos pelo reto
<b>Vias aéreas e pulmões</b>	Os cílios varrem o muco para o exterior, tossir, espirrar expelle muco, macrófagos nos alvéolos do pulmão.

Fonte: adaptada de Kindt, Goldsby, Osborne (2008, p. 78).

Outro papel da imunidade inata está no **reconhecimento** dos produtos oriundos de células danificadas ou mortas do hospedeiro. Assim, a resposta inata atua também na eliminação desses elementos e no **reparo tecidual**. Essa função da resposta inata é possível graças aos **fagócitos**, principalmente macrófagos e neutrófilos, que fagocitam e matam os microrganismos, produzem citocinas como resposta a eles, causando inflamação e reparo dos tecidos danificados.

A imunidade inata também tem a função de gerar um **"alerta" de infecção**, ou seja, vai estimular respostas adaptativas, influenciando respostas imunológicas mais específicas e eficientes contra diversos patógenos. Isso ocorre com a participação das **células dendríticas** que internalizam antígenos, transporta-os aos gânglios linfáticos e apresenta-os aos linfócitos T naive. Dessa maneira, essas células direcionam e desencadeiam uma eventual resposta adaptativa.

Dentro dos eventos que ocorrem durante a resposta imune inata, a **inflamação** é a principal maneira pela qual o sistema lida com as infecções e as lesões teciduais, uma vez que o patógeno ultrapassou as principais barreiras fisiológicas. No processo inflamatório, o aumento do fluxo sanguíneo local corrobora com a migração leucocitária que, além de fagocitarem os patógenos invasores, liberam diversos mediadores moleculares (citocinas) que contribuem para a resposta inflamatória, o recrutamento e a ativação de células efetoras que vão batalhar para a destruição do microrganismo invasor. As principais células envolvidas nos processos inflamatório são os **neutrófilos e monócitos**.

No caso do ataque primário a vírus, as reações mediadas por citocinas, além de tornar as células resistentes à infecção viral, irão induzir à destruição das células infectadas por vírus através da ação de células NK (*natural killer*, ou assassinas naturais).

Além dos componentes celulares, a imunidade inata também possui **moléculas solúveis de reconhecimento e efetoras**. É o caso das **opsoninas** que se ligam aos microrganismos. Assim, o chamado sistema complemento atua na **opsonização de microrganismos**, no **recrutamento de fagócitos** para o sítio a infecção, promovendo um aumento de sua fagocitose e na **morte direta de patógenos**.



## Pesquise mais

Saiba mais sobre os outros componentes do sistema imune inato e as principais etapas da resposta imune inata em:

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. Capítulo 4.

KINDT, T. J.; GOLDSBY, R. A.; OSBORNE, B. A. **Imunologia de Kuby**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. Capítulo 3.

Outros mediadores solúveis também vão promover uma resposta inflamatória, induzindo o recrutamento adicional de mais elementos fagocíticos para o local da infecção. Os anticorpos naturais são as imunoglobulinas produzidas por linfócitos B com número limitado de especificidade, já que não se baseia na exposição à antígenos, mas sim, já estão presentes antes da infecção.



## Assimile

Para assimilar alguns dos itens tratados e aprofundar seus conhecimentos, assista os vídeos em:

BIOMEDICINA SP. Resposta imunitária – Animação em 3D. Disponível em: <[https://www.youtube.com/watch?v=M\\_6HfKtYNYs](https://www.youtube.com/watch?v=M_6HfKtYNYs)>. Acesso em: 17 nov. 2017. **(Vídeo do YouTube)**

DOWN ZERO. Imunidade Inata – Sistema Complemento. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=VUjhLPY6khY>>. Acesso em: 17 nov. 2017.

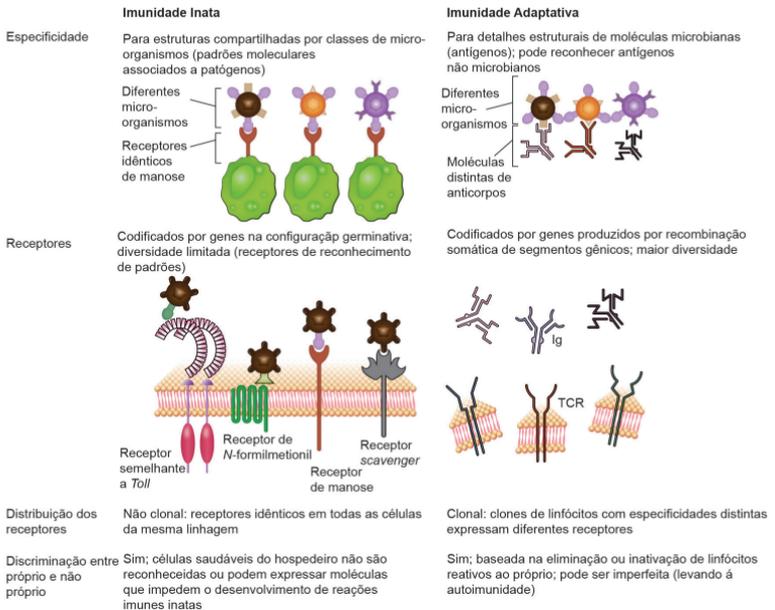
DOWN ZERO. Imunidade Inata – Reconhecimento inato de patógenos. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=EY4DpqgeGvI>>. Acesso em: 17 nov. 2017.

Atavés da resposta imune inata com a produção de diversas citocinas, juntamente com a presença antigênica, ocorre a proliferação e a diferenciação de linfócitos T e B antígeno-específicos. Assim, além de fornecer a primeira defesa contra os agentes patogênicos, a resposta inata inicia e influencia a natureza da resposta adaptativa.

## Imunidade adquirida

Quando um organismo consegue transpor a linha inicial de defesa da imunidade inata, ocorre a **resposta imune adquirida** ou **adaptativa**. A ativação desse processo requer tempo para que se torne efetiva.

Figura 3.9 | Especificidade da Imunidade Inata e Adquirida



Fonte: Abbas, Lichtman, Pillai (2011, p. 57).

Diferentemente da imunidade inata, a imunidade adquirida apresenta algumas características únicas como a **diversidade**, que o denota sendo capaz de reconhecer milhares de antígenos diferentes e a **especificidade**, ou seja, a capacidade de gerar uma resposta específica para cada um deles. Além disso, apresenta **memória imunológica** a qual aumenta a habilidade de resposta a um antígeno quando o organismo é exposto a esse pela segunda vez. Assim, são geradas respostas mais rápidas e efetivas que no primeiro contato. As células de memória podem reconhecer os antígenos por anos. Através da **especialização** do sistema imune adquirido, a resposta imunológica pode ocorrer por diferentes vias, aumentando a eficiência do processo de defesa. Assim, células B e T são especializadas em

diferentes classes de microrganismos e seus diferentes estágios de infecção. Os linfócitos T e B apresentam a capacidade de **discriminação própria** e não própria, ou seja, reagem contra moléculas estranhas, mas não contra as moléculas “próprias” do organismo. Quando da necessidade de término da resposta imune, as células B e T produzem moléculas que auxiliam na finalização do processo.

Conforme veremos adiante, a imunidade adaptativa conta com três mecanismos principais para combater os patógenos invasores: anticorpos, linfócitos Th (*helper, ou auxiliares*) e linfócitos T citotóxicos. Assim, a resposta imune adquirida vai ativar um ou mais dessas estratégias de defesa, desenvolvendo-se em etapas que contam com reações específicas dos linfócitos envolvidos.

## 1) Reconhecimento do antígeno

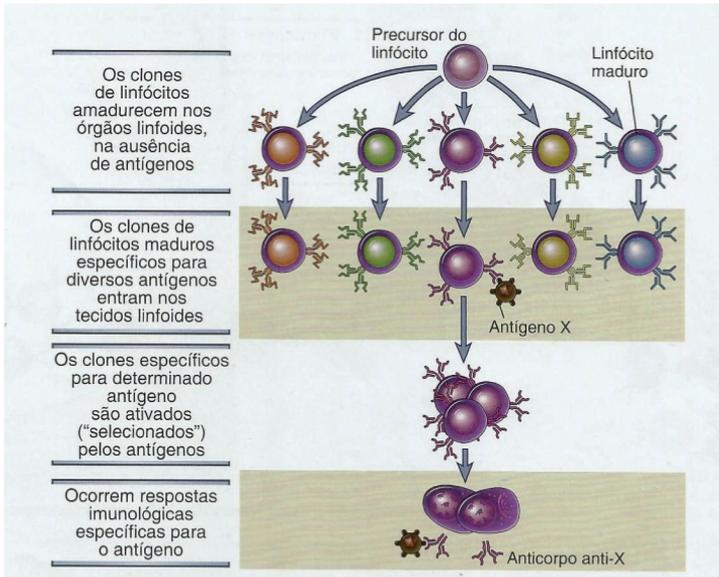
Nessa primeira etapa, as **células apresentadoras de antígenos** (APC), como as células dendríticas dos epitélios e mucosas, capturam os patógenos, processam seus peptídeos antigênicos e expressam os antígenos ligados a **moléculas MHC**. As células APC transportam esse complexo proteico antigênico pela circulação até os gânglios linfáticos, ao encontrar um **linfócito T** naive (virgens), fará a apresentação do antígeno. Além disso, antígenos microbianos não processados, ao atingirem gânglios linfáticos ou mesmo o baço, são reconhecidos por **linfócitos B** específicos. Essas partículas antigênicas em sua forma nativa também podem ser apresentadas às células B por macrófagos.

## 2) Ativação do linfócito

Antes mesmo de serem expostos aos antígenos, alguns linfócitos maduros já são específicos para certos tipos de peptídeos oriundos de certos patógenos. Essa é a chamada **hipótese de seleção clonal**. Graças a esse processo, os clones gerados na maturação linfocitária maximizam o potencial de reconhecimento de diversos microrganismos.



Figura 3.10 | A hipótese da seleção clonal



Fonte: Abbas, Lichtman, Pillai (2011, p. 12).

A ativação dos linfócitos T virgens através do reconhecimento do complexo antígeno-MHC das APCs é essencial, não apenas pelo reconhecimento do antígeno em si, mas porque outras moléculas que participam da ativação dos linfócitos T são expressas na superfície das APCs. O reconhecimento dessas moléculas coestimuladoras confere especificidade à resposta imunológica.

Através dos anticorpos de superfície, os linfócitos B também reconhecem antígenos de diferentes composições químicas. Assim, a interação com receptores de antígenos e outros sinais vão desencadear a diferenciação e a proliferação dos linfócitos T e B.

### 3) Eliminação do antígeno

Tanto as funções quanto os tipos de respostas imunológicas geradas pelas células T e B são diferentes e serão estudadas mais especificamente na terceira e quarta etapa dessa seção.

## 4- Contração ou declínio

A medida que a resposta imune decorre e os antígenos são eliminados, os clones dos linfócitos estimulados pelo antígeno morrem por apoptose, restaurando a homeostasia do sistema imunológico.

## 5- Memória

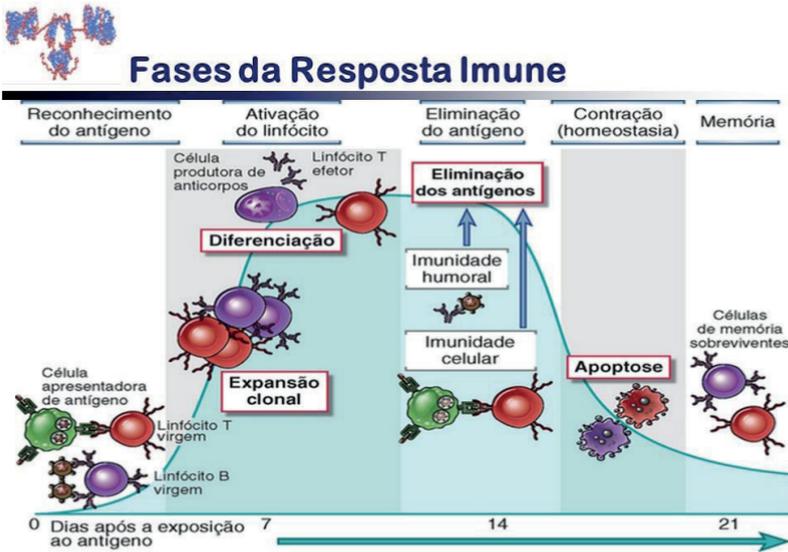
Com a ativação dos linfócitos no início da resposta imune, são geradas células de memória de vida longa, que sobrevivem anos após a infecção, ou seja, não são totalmente eliminadas durante a etapa de declínio. Por apresentar um reservatório expandido de células específicas para um determinado tipo de antígeno e, assim, responderem de forma mais rápida contra o antígeno, as células de memória são mais efetivas no combate aos microrganismos que os linfócitos virgens.



Refleta

De acordo com as diferenças na atuação dos linfócitos T virgens e dos linfócitos de memória frente à uma infecção, de que forma você avalia a importância da vacinação?

Figura 3.11 | Fases da resposta imune adaptativa



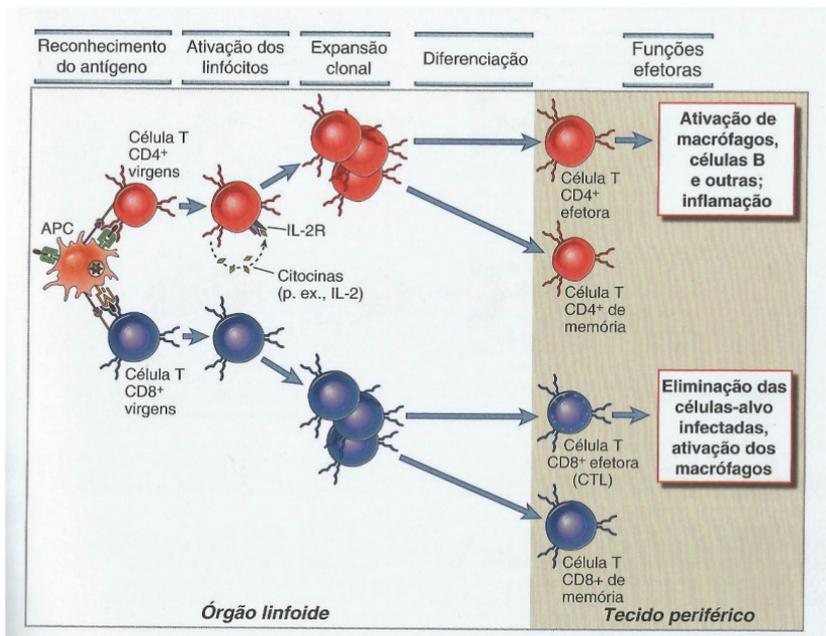
Fonte: Abbas, Lichtman, Pillai (2011, p. 11).

De acordo com a natureza do patógeno e da maneira como seus antígenos são processados, a resposta imune pode seguir por dois caminhos diferentes, que levam a proliferação de linfócitos T do tipo CD8 (resposta celular) ou a secreção de anticorpos pelas células B e plasmócitos (resposta humoral). Essas duas vias serão discutidas a seguir.

## Imunidade celular

Quando os linfócitos **T auxiliares CD4** são ativados, eles proliferam e se diferenciam em células efetoras. Assim, sua resposta é mediada através da secreção de citocinas, como a interleucina 2 (IL-2), que atua sobre os linfócitos ativados, estimulando sua proliferação através da **expansão clonal**.

Figura 3.12 | Fases das respostas da célula T.



Fonte: Abbas, Lichtman, Pillai (2011, p. 205).

Parte dos linfócitos gerados diferenciam-se em **células efetoras**, que irão secretar diferentes citocinas com diferentes funções. Quando essas células saem dos órgãos linfóides e vão

para os locais da infecção, ao encontrar os microrganismos, são ativados para desempenhar sua função de eliminar o patógeno. Essas células também estimulam a produção de imunoglobulina E (IgE) que ativam eosinófilos, que podem matar parasitas grandes e que não podem ser fagocitados.

Algumas células T auxiliares também atuam na secreção de citocinas que recrutam os fagócitos e os estimulam a produzir substâncias microbicidas nos fagócitos.

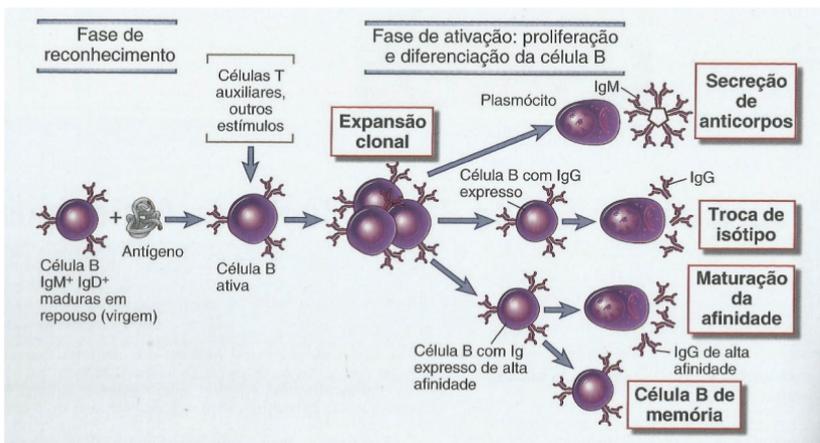
Os **linfócitos CD8** são ativados, proliferam e se diferenciam em linfócitos citotóxicos (CTL). Essas células vão destruir células que contêm patógenos em seu interior como vírus e bactérias, eliminando os reservatórios da infecção.

### Imunidade humoral

Através de sinais ativadores de células T CD4, as **células B** respondem aos antígenos. Quando ativados, os linfócitos B proliferam e se diferenciam em células secretoras de diferentes classes de anticorpos com funções específicas. Parte dos clones gerados será constituída por **plasmócitos** especializados na secreção de anticorpos. Esses anticorpos apresentam o mesmo local de ligação de antígenos que os anticorpos de superfície celular que reconhecerem o antígeno inicialmente.

Nesse tipo de resposta imunológica, os microrganismos podem ser atacados por diferentes estratégias. Os anticorpos podem se ligar ao microrganismo neutralizando-o, ou seja, impedindo que ele seja capaz de infectar células ou colonizar tecidos do hospedeiro. Anticorpos do tipo IgG, por exemplo, recobrem os microrganismos sinalizando-os como alvo para a fagocitose. Esse tipo de anticorpo também é transmitido via placentária pela mãe para proteger o recém-nascido até que ele tenha maturidade imunológica. A imunoglobulina IgA, secretada em epitélios da mucosa do trato respiratório e intestinal, também atuam na neutralização de microrganismos. A maioria dos anticorpos têm uma meia-vida curta, no entanto, alguns plasmócitos são capazes de migrar para a medula óssea e permanecer durante anos produzindo níveis basais de anticorpos. Assim, as células de memória, quando novamente ativadas pelo microrganismo específico, diferenciam-se rapidamente produzindo plasmócitos que secretaram anticorpos (resposta secundária).

Figura 3.13 | Fases da resposta imune humoral



Fonte: Abbas, Lichtman, Pillai (2011, p. 244).

## Sem medo de errar

Ana Clara se empolgou com a atividade extraclasse e estudou bem o tema proposto pela professora. Ela gosta tanto de imunologia que decidiu auxiliar os colegas de classe no pré estudo da imunidade adquirida primária e secundária, e esclareceu para eles os principais pontos do tema.

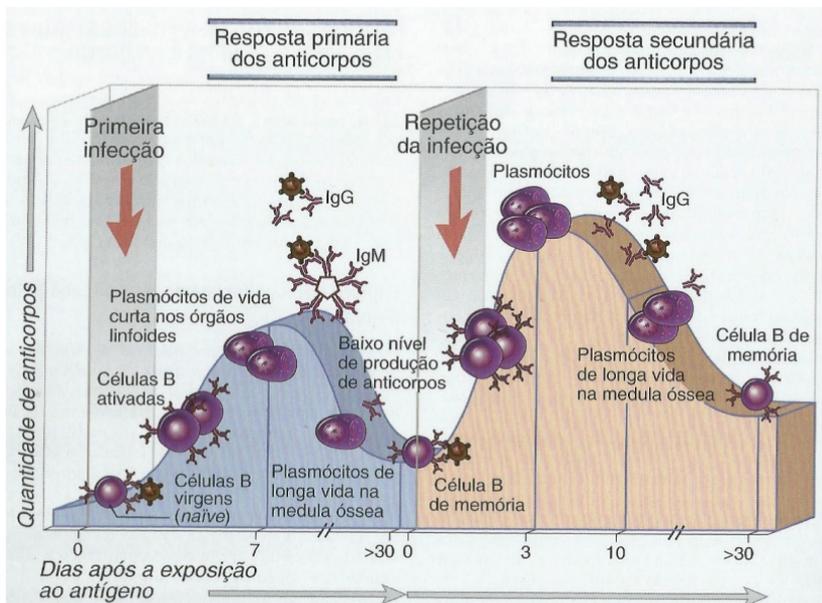
Quando o organismo entra em contato pela primeira vez com um antígeno a ativação das células B virgens não estimuladas gera uma resposta imune humoral primária. Nessa etapa, as células B ativadas se diferenciam em célula secretoras de anticorpos que produzem anticorpos especificamente para aquele antígeno. Assim, a resposta primária tem um pico menor de quantidade de anticorpos, geralmente a secreção é majoritariamente de IgM com menor concentração de IgG e esses anticorpos iniciais apresentam uma afinidade menor que a média. Alguns dos plasmócitos (células B especializadas na produção e secreção de anticorpos) migram e sobrevivem por longos períodos na medula óssea, onde continuam produzindo anticorpos numa concentração baixa. Além disso, durante essa resposta primária, também são gerados linfócitos B de memória.

Já num segundo contato com o mesmo antígeno, as

respostas imunes secundárias ocorrem através do estímulo de clones de células B expandidos. Assim, as células proliferam e se diferenciam bem mais rápido. Trata-se de uma resposta que se desenvolve de forma mais rápida do que a primeira e com a produção de uma quantidade maior de anticorpos. Nesse caso, há um aumento relativo de concentração de IgG e, em casos específicos, de IgA e IgE. Assim, essa mudança de isótipo da cadeia pesada e a maturação da afinidade também são aumentadas com repetidas exposições ao mesmo antígeno proteico. Além disso, na resposta humoral secundária há a participação de células T auxiliares.

Para completar o dia de pré estudo com os colegas, Ana Clara encontrou uma figura que resume bem esse ponto e apresentou para a turma, que ficou muito satisfeita em aprofundar seus conhecimentos em imunologia.

Figura 3.14 | Respostas imunes humorais primárias e secundárias



Fonte: Abbas, Lichtman, Pillai (2011, p. 246).

### Vacinar sem neuras!

#### Descrição da situação-problema

Voltando da faculdade de ônibus urbano, Ana Clara presenciou uma discussão sobre um tema que gosta muito: vacinação. Havia duas mulheres, cada uma com seu respectivo bebê, sentadas no assento ao lado dela. Estavam conversando sobre a importância da vacinação dos bebês e das crianças. Uma das mulheres afirmava sobre a importância de seguir corretamente o calendário de vacinas, enquanto a outra estava reticente em fornecer todas as vacinas indicadas por medo que seu filho desenvolvesse o autismo. Ana Clara já havia discutido sobre esse tema com seus colegas de turma e sabe bem da importância da vacinação para a sociedade. Para sua surpresa, uma das mulheres reparou que a estudante carregava um livro de imunologia e pediu a opinião de Ana Clara sobre o tema. De que forma Ana Clara pode conversar com essas mulheres da comunidade, mostrando a importância da imunização infantil?

#### Resolução da situação-problema

Ana Clara ficou tão satisfeita em poder contribuir com a sociedade, que explicou de forma muito feliz e clara esse tema tão importante.

Em nosso país, o Programa Nacional de Imunização é reconhecido mundialmente, o qual faz com que nós registremos cada vez menos casos de muitas doenças infectocontagiosas, inclusive com a erradicação de algumas, como sarampo e poliomielite. Dessa maneira, o Ministério da Saúde propõe um calendário de vacinação que abrange todas as idades, especialmente a fase infanto-juvenil.

É preciso ficar atento a informações veiculadas de maneira irresponsável onde alguns artigos – não científicos – falam sobre a possibilidade de que as vacinas causariam doenças de fundo comportamental como o autismo, por exemplo. Isso é um grande mito e já existem diversos trabalhos científicos sérios que, após envolver milhares de crianças, não mostraram diferença nos índices de diagnóstico de autismo entre crianças vacinadas e não vacinadas, por exemplo.

Esse novo movimento “anti-vacinação” que vem surgindo nos últimos anos pode ser extremamente perigoso, inclusive doenças que já estavam erradicadas estão voltando a ser diagnosticadas nos últimos anos. É o caso, por exemplo, do sarampo em países como Estados Unidos, Canadá e países da Europa.

Assim, cada vez que uma mãe deixa de vacinar um bebê, além de o expor aos riscos de doenças potencialmente mortais, ela pode estar ajudando a causar um problema de saúde pública.

Por isso, é preciso pensar de forma consciente e racional, e não ignorar todo o conhecimento científico que foi desenvolvido ao longo de anos de estudos e de experimentos sérios.

## Faça valer a pena

**1.** Nosso corpo enfrenta batalhas diárias contra potenciais invasores que, uma vez instalados, poderiam causar um desequilíbrio fisiológico e doenças. Assim, a primeira linha de defesa contra esses potenciais patógenos tem como principais funções a prevenção, o controle e a eliminação dessa tentativa inicial de infecção.

Selecione a alternativa que cita a qual tipo de imunidade o texto acima se refere:

- a) Imunidade adaptativa.
- b) Imunidade adquirida.
- c) Imunidade humoral.
- d) Imunidade celular.
- e) Imunidade inata.

**2.** São características da imunidade adaptativa:

I- A diversidade, ou seja, a capacidade de reconhecer diferentes antígenos.

II- A especificidade, que é a habilidade de gerar uma resposta específica para cada antígeno reconhecido.

III- A memória imunológica que deixa mais efetiva a resposta à um antígeno que é reconhecido pela segunda vez.

IV- Diferenciação do próprio e do não próprio, na qual o sistema imune é capaz de reagir contra moléculas estranhas, mas não contra moléculas do próprio organismo.

Quais das afirmações acima são realmente características da resposta

imune adaptativa?

- a) Apenas I e II.
- b) I, II e III.
- c) Apenas IV.
- d) I, II e IV.
- e) Todas as afirmações são verdadeiras.

**3.** Observe a lista abaixo e indique a letra H para imunidade humoral e letra C para imunidade celular:

- 1-Linfócitos T são ativados, proliferam e se diferenciam em células efetoras.
- 2-Produção de IL-2.
- 3-Células T CD 4 sinalizam para células B que se diferenciam.
- 4-Linfócitos CD8 diferenciam-se em linfócitos citotóxicos.
- 5-Diferenciação de células B em plasmócitos.
- 6-Ativação de eosinófilos que atacam grandes parasitas.
- 7-Recobrimento de microrganismos com IgG, sinalizando-os para fagocitose.

Selecione a alternativa que contém as indicações corretadas de cada tipo de resposta imune:

- a) 1-C, 2-C, 3-H, 4-C, 5-H, 6-C, 7-H.
- b) 1-H, 2-H, 3-C, 4-H, 5-C, 6-H, 7-C.
- c) 1-C, 2-C, 3-H, 4-C, 5-H, 6-C, 7-C.
- d) 1-C, 2-H, 3-H, 4-C, 5-H, 6-C, 7-C.
- e) 1-C, 2-H, 3-H, 4-C, 5-H, 6-C, 7-H.

## Seção 3.3

### Autoimunidade

#### Diálogo aberto

O final do ano está chegando e a formatura de Ana Clara também. Apesar de super feliz com a formatura e a possibilidade de iniciar seu tão esperado projeto de Mestrado em Imunologia, nas últimas semanas, Ana Clara tem se sentido mais preguiçosa que o normal, sonolenta, com uma vitalidade alterada. Da última vez que aferiu, estava com uma leve hipotensão arterial. Certo dia, tomando um suco com uma amiga, a colega de turma estranhou Ana Clara e achou que ela estava apresentando um certo inchaço em seu pescoço, na região da garganta. A princípio, Ana Clara não deu muita importância, pois pensou que as pizzas das comemorações do final do semestre a ajudaram a ganhar peso. Mas, revendo os conteúdos de imunologia e lembrando as aulas sobre autoimunidade, Ana Clara começou a se preocupar com os últimos acontecimentos que notou em sua fisiologia. Qual a possível hipótese de Ana Clara? Como esses sintomas podem estar relacionados?

#### Não pode faltar

##### Autoimunidade

Até o momento, estudamos as características do sistema imunológico humano, seus componentes e os diferentes tipos de respostas ou reações imunológicas que nossa fisiologia demanda em determinadas situações. Algumas vezes a resposta imune, especialmente do tipo adaptativa ou adquirida, pode ser desencadeada contra antígenos que não estão associados a agentes patogênicos. Neste caso, o que pode ocorrer é uma reação imunológica contra o que é próprio, ou seja, há o ataque imunológico ao que é tecido ou célula da própria pessoa ou mesmo a tecidos implantados, no caso de transplantes, por exemplo. Dessa maneira, uma doença autoimune ocorre quando é gerada uma resposta imunológica adquirida específica contra antígenos próprios. Assim, a **autoimunidade**, pode ser desencadeada quando a tolerância a autoantígenos, ou seja, a **autotolerância**, falha.

## Autoimunidade: caracterização

Para caracterizarmos a autoimunidade, é preciso que entendamos os conceitos envolvidos na tolerância imunológica, ou seja, o estágio de não responsividade à um antígeno. Nesse contexto, os antígenos que induzem tolerância são os **tolerógenos** enquanto os que levam de fato a uma resposta imunológica são os imunógenos, a depender da forma como o antígeno é apresentado ao sistema imune.

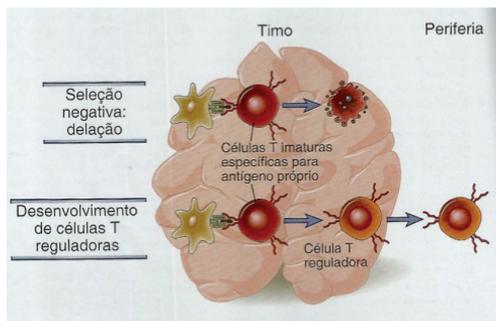
A principal maneira pela qual a tolerância é mantida é a deleção de clones de linfócitos que, durante a maturação inicial, podem reagir com moléculas próprias. No desenvolvimento do sistema imune de um indivíduo, os genes de receptores de antígenos se combinam aleatoriamente e, eventualmente, células T ou B podem vir a apresentar receptores capazes de reconhecer moléculas normais dessa pessoa. Assim, tanto os rearranjos genéticos ocorridos para a geração de um receptor de célula T (TCR) ou de uma imunoglobulina (Ig) podem formar receptores autorreativos. Assim, a autotolerância é exercida através de mecanismos que impedem a maturação e ativação de linfócitos que se tornariam potencialmente danosos a moléculas do próprio indivíduo. Por isso, essas células têm seus receptores alterados ou editados para reduzir sua afinidade pelo que é próprio.

Além disso, através de um processo denominado **seleção negativa**, o mecanismo de **tolerância central** que foca na eliminação de células B na medula óssea e de células T no timo, induz a morte de células que carregam TCR ou Ig potencialmente autorreativos.



### Exemplificando

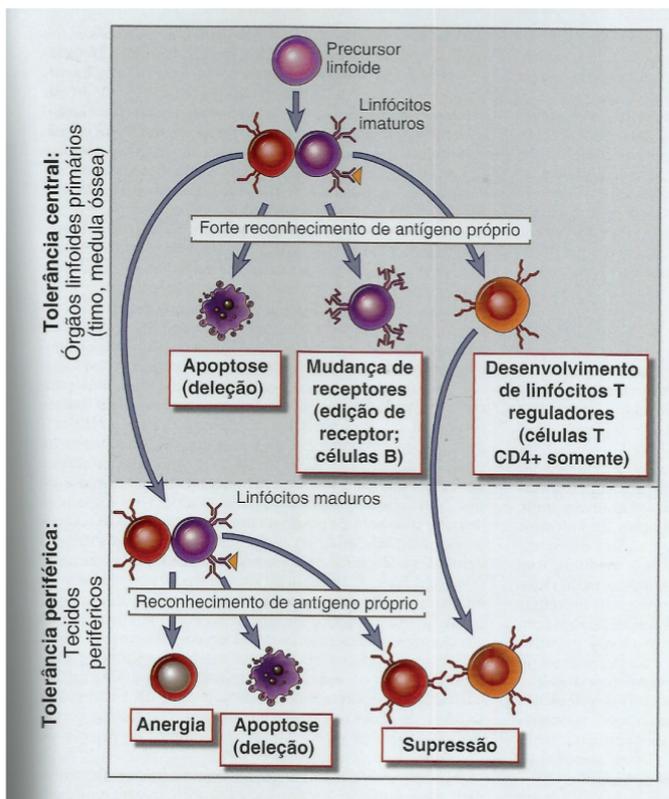
Figura 3.15 | Seleção negativa em célula T



Fonte: Abbas, Lichtman, Pillai, S. (2011, p. 322).

Dessa forma, a tolerância central garante que os linfócitos maduros sejam irresponsíveis aos antígenos próprios expressos nos órgãos linfoides primários ou centrais (timo ou medula óssea). No entanto, esse mecanismo não é perfeito e, por isso, são necessárias ferramentas de **tolerância periférica** que irão prevenir a ativação de linfócitos autorreativos que possam ter escapado do filtro da tolerância central. Assim, essas células potencialmente danosas são induzidas a morte celular ou passam a ser suprimidas por células T reguladoras.

Figura 3.16 | Tolerância central e periférica a antígenos próprios



Fonte: Abbas, Lichtman, Pillai (2011, p. 321).

Para que o conceito de autoimunidade seja plenamente compreendido, vamos dividir didaticamente nosso estudo da tolerância, tratando primeiramente do envolvimento das células T e depois da participação das células B.

## Autoimunidade e a tolerância dos linfócitos T

Conforme vimos anteriormente, as células T podem ser do tipo CD4 (as auxiliares (*helper*) ou CD8 (as citotóxicas). Sobre o segundo grupo, ainda não se sabe muito a respeito de sua participação no processo de tolerância. Já as células T CD4 auxiliares têm um mecanismo efetivo na prevenção da resposta imune contra antígenos proteicos, especialmente importante nos estudos sobre a indução de tolerância à transplantes.

Falando em **tolerância central** das células T, ao longo de sua maturação tímica, as células T sofrem a seleção negativa, ou seja, as células T muito responsivas à antígenos são eliminadas. Assim, os antígenos próprios apresentados às células T em maturação no timo incluem proteínas circulantes associadas a células que são vastamente distribuídas nos tecidos. Quando esses linfócitos altamente responsivos são detectados, eles são induzidos à morrerem por apoptose ou são diferenciados em células T reguladoras específicas para esse determinado antígeno. No entanto, ainda não se sabe qual mecanismo determina quais desses dois destinos o linfócito T terá.

Muitos antígenos próprios não estão presentes no timo, por isso, a **tolerância periférica** permite que as células T maduras que acabam reconhecendo o que é próprio dos tecidos periféricos tornem-se irresponsivas a esses. Esse processo se dá através da anergia (não responsividade funcional), supressão e deleção (morte celular).

Na **anergia**, as células autorreativas não são eliminadas, mas, sob ausência de coestimulação, tornam-se incapazes de responder aos antígenos. A supressão dos linfócitos T autorresponsivos é feita por células T reguladoras, de forma que a resposta imunológica é bloqueada para manter autotolerância. E na **deleção**, o processo apoptótico acomete os linfócitos T que reconhecem antígenos próprios.

## Autoimunidade e a tolerância dos linfócitos B

Assim como o controle da responsividade celular ao que é próprio e importante, a tolerância dos linfócitos B têm o papel de prevenir a resposta imunológica aos antígenos proteicos, abortando a maturação e

ativação de células B autorresponsivas. Dessa forma, células B imaturas que reconhecem antígenos próprios com alta afinidade na medula óssea podem passar pelos seguintes mecanismos de **tolerância central**:

- **Edição de receptores**: as células sofrem uma recombinação estrutural de seus receptores, rearranjando as cadeias proteicas de imunoglobulina.
- **Deleção**: caso haja falha da edição, as células são eliminadas.
- **Anergia**: assim como no caso das células T, as células B podem deixar a medula óssea em estado irresponsivo.

Alguns desses mecanismos também são aplicados, caso as células B maduras com reatividade ao que é próprio cheguem aos tecidos periféricos. Então, através dos processos envolvidos na **tolerância periférica de células B**, os linfócitos B que reconhecem antígenos próprios na periferia sem a participação de células T auxiliares, podem se tornar não funcionais através da anergia ou serem deletadas por apoptose.



### Pesquise mais

Leia mais sobre os mecanismos da tolerância das células T e das células B, e veja todas as figuras e esquemas explicativos. É muito esclarecedor! Disponível em:

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. *Imunologia Celular e Molecular*. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. p. 321-333.

Além dos mecanismos de tolerância que estudamos, outra forma de proteger o organismo de uma reação imune ao que é próprio é o sequestro de antígenos. Assim, através de compartimentalização, alguns antígenos ficam impedidos de encontrar linfócitos reativos. No entanto, caso haja o rompimento dessa “barreira”, o antígeno certamente será visto como estranho.



Assimile a importância de barreiras fisiológicas e como elas podem influenciar o equilíbrio fisiológico e desencadear uma resposta autoimune, no artigo da Revista Pesquisa FAPESP. Disponível em:

<<http://revistapesquisa.fapesp.br/2016/12/16/quando-as-defesas-destroem-o-cerebro/>>. Acesso em: 30 nov. 2017.

### Autoimunidade: implicações

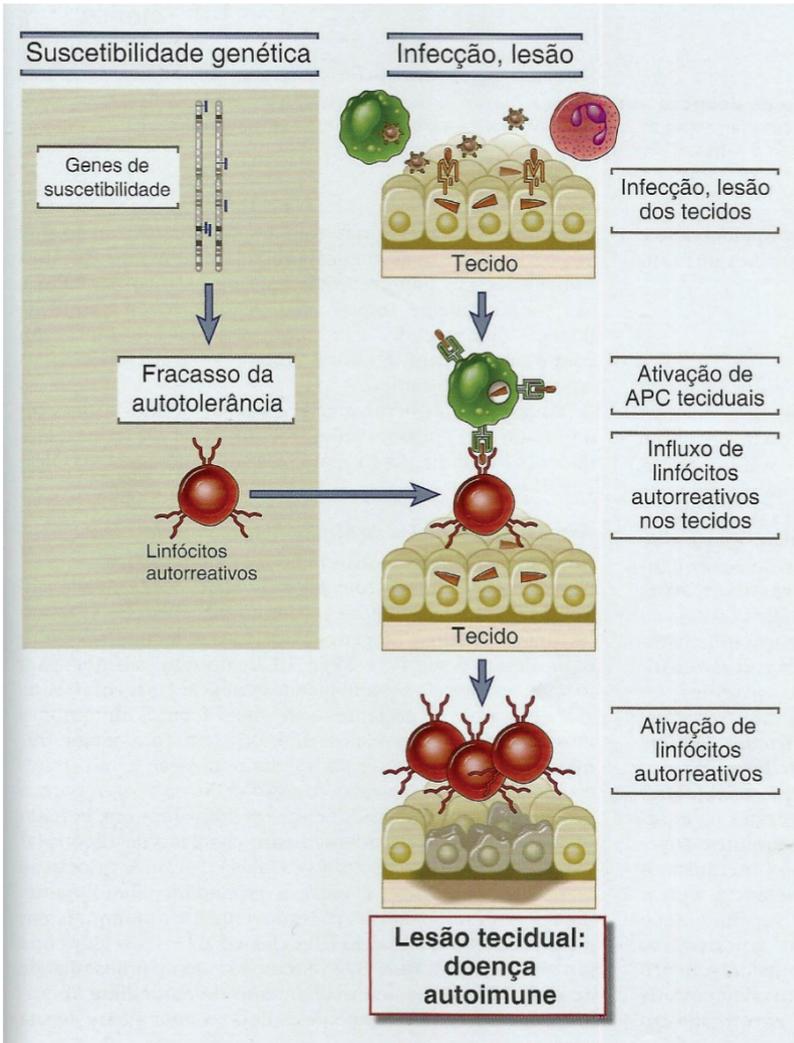
Conforme mencionamos, quando os mecanismos de tolerância que capacita o organismo contra ação de linfócitos autorreativos falham, pode haver o desenvolvimento de uma doença autoimune. Nesse cenário, a falha na autotolerância de células T ou B leva ao desequilíbrio entre a ativação de linfócitos e os mecanismos de controle. Essas falhas podem envolver defeitos no processo de seleção negativa de linfócitos, linfócitos T reguladores defeituosos, falha na apoptose de células autorreativas, função inadequada de receptores inibitórios, ativação excessiva de células T devido a ação inadequada de células APC.



Alguns autores informam que o termo **autoimunidade** pode ser usada de forma errada em alguns casos. Isso porque nem todos os danos são causados efetivamente por uma resposta imune contra o que é próprio. Por isso, algumas das doenças que envolvem inflamação por exemplo, são agrupadas como doenças inflamatórias imunologicamente mediadas.

As principais causas do desenvolvimento da autoimunidade são a suscetibilidade genética e influências ambientais como infecções e lesões de tecidos. Nesse segundo caso, uma infecção ou necrose tecidual, pode promover a penetração de células autorreativas e sua ativação, alterando a maneira como os antígenos próprios são “vistos” pelo sistema imune.

Figura 3.17 | Mecanismos da autoimunidade



Fonte: Abbas, Lichtman, Pillai (2011, p. 335).

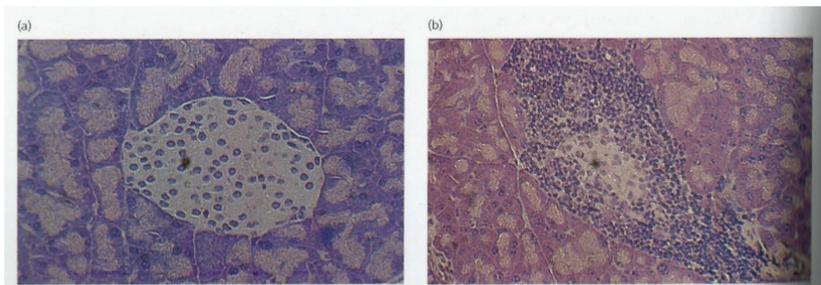
De acordo com o antígeno que é erroneamente reconhecido como não próprio, as doenças imunes podem ser classificadas como **sistêmicas** (como o lúpus eritematoso) ou **órgão-específicas** (como a diabetes tipo I). Além disso, essas doenças têm uma tendência a serem crônicas, progressivas e autoperpetuadoras, uma vez que os antígenos próprios que disparam essa resposta são persistentes.



No fenômeno conhecido como **expansão dos epitopos**, uma resposta imunológica iniciada para um antígeno próprio, acaba lesionando tecidos, liberando outros antígenos teciduais, levando a ativação de linfócitos específicos, e promovendo uma reação em cadeia o que leva à exacerbação do processo patológico. Assim, uma determinada doença autoimune pode vir a se tornar mais prolongada e autopropagadora.

Uma das principais doenças autoimunes órgão-específicas é a **diabetes mellitus dependente de insulina**. Ela atinge cerca de 0,2% da população e é resultado do ataque autoimune ao pâncreas, mais especificamente contra as células beta agrupadas nas ilhotas de Langerhans, que são especializadas na produção de insulina. Na figura abaixo, é possível observar uma ilhota de um camundongo saudável e outro de um camundongo com uma doença similar ao diabetes mellitus. Note a infiltração dos linfócitos nas ilhotas da figura b, o que sugere o ataque às células B.

Figura 3.18 | Fotomicrografias de ilhotas de Langerhans



Legenda: Ilhotas do pâncreas de um camundongo normal (a) e do pâncreas de um animal com doença semelhante a diabetes mellitus (b).

Fonte: Kindt, Goldsby, Osborne (2008, p. 438).

Outra doença também relacionada à um órgão é a **tireoide de Hashimoto**, na qual o organismo produz anticorpos e ativa células T contra antígenos da tireoide. Ocorre uma marcante infiltração leucocitária na tireoide e uma resposta inflamatória que resulta no aumento visível da glândula, característico da doença. Como consequência desse processo, o indivíduo desenvolve hipotireoidismo.

Uma das doenças autoimunes sistêmicas mais conhecidas é o **lúpus eritematoso sistêmico**, que acomete principalmente mulheres, na faixa dos 20 a 40 anos. Nessa doença os indivíduos produzem autoanticorpos contra diversos antígenos de diferentes tecidos, como DNA, eritrócitos, plaquetas, leucócitos entre outros. Conseqüentemente, podem surgir sintomas como febre, fraqueza, artrite, anemia hemolítica, vasculite, glomerulonefrite, etc.

Outra doença autoimune sistêmica é a **esclerose múltipla**. Nessa doença, os indivíduos desenvolvem linfócitos T que participam de processos inflamatórios capazes de lesionar a bainha de mielina de fibras nervosas. Como consequência dessas lesões, surgem numerosas disfunções neurológicas. As causas dessas doenças ainda não foram completamente elucidadas, mas estudos apontam que a infecção por alguns tipos de vírus pode predispor o hospedeiro a desenvolver a esclerose múltipla.

Figura 3.19 | Algumas das principais doenças autoimunes em humanos

Doença	Antígeno próprio	Resposta imune
<b>DOENÇAS ANTO-IMUNES ÓRGÃO ESPECÍFICAS</b>		
Doenças de Addison	Células adrenais	Auto-anticorpos
Anemia hemolítica auto-imune	Proteínas RBC de membrana	Auto-anticorpos
Síndrome de Goodpasture	Membranas basais de pulmão e renais	Auto-anticorpos
Doenças de Graves	Receptor do hormônio estimulante da tireóide	Auto-anticorpos (estimulantes)
Tireoidite de Hashimoto	Proteínas da tireóide e células	Células T <sub>H</sub> 1, auto-anticorpos
Trombocitopenia púrpura idiopática	Proteínas de membrana de plaquetas	Auto-anticorpos
Diabete melito dependente de insulina	Células beta pancreáticas	Células T <sub>H</sub> 1, auto-anticorpos
Miastenia grave	Receptores de acetilcolina	Auto-anticorpos (bloqueio)
Infarto do miocárdio	Coração	Auto-anticorpos
Anemia perniciosa	Células gástricas parietais	Auto-anticorpos
Glomerulonefrite pós-estreptocócica	Rim	Complexos antígeno-anticorpo
Infertilidade espontânea	Esperma	Auto-anticorpos
<b>DOENÇAS ANTO-IMUNES SISTÊMICAS</b>		
Espondilite anquilosante	Vértebras	Complexos imunes
Esclerose múltipla	Cérebro ou massa branca	Células T <sub>H</sub> 1 e células T <sub>C</sub> , auto-anticorpos
Artrite reumatoide	Tecido conectivo; IgG	Auto-anticorpos, complexos imunes
Escleroderma	Coração, pulmões, trato gastrointestinal, rim, núcleo	Auto-anticorpos
Síndrome de Sjögren	Glândula salivar, fígado, rim, tireóide	Auto-anticorpos
Lúpus eritematoso sistêmico (SLE)	DNA, proteínas nucleares, RBC e membranas de plaquetas	Auto-anticorpos, complexos imunes

Fonte: adaptado de Kindt, Goldsby, Osborne (2008, p. 432)

## Autoimunidade: tratamentos

Entender a autoimunidade ainda é um desafio para os cientistas. Afinal, como combater algo que ataca o próprio paciente sem prejudicar as células que não causam a doença? Ou seja, diferenciar o bandido do mocinho?

Nesse sentido, o tratamento da grande maioria das doenças autoimunes foca na inibição do sistema imunológico. No entanto, o fato de não conseguir causar uma **imunossupressão seletiva** das células e anticorpos autorreativos, resulta em um cenário em que os pacientes acabam com um estado de imunossupressão geral, deixando-os susceptíveis a infecções por agentes patogênicos como bactérias, por exemplo, o que demanda um cuidado a mais na rotina dessas pessoas.

No caso do lúpus, por exemplo, além do uso de corticoides, é imprescindível que o paciente abuse da proteção solar, não fume, realize exames periodicamente, etc. Para as pessoas portadoras de diabetes mellitus insulino-dependentes, o objetivo do tratamento é manter os níveis normais de açúcar no sangue, com a aplicação regular de insulina, realização de uma dieta adequada e acompanhamento médico frequente.

De modo geral, os pacientes são tratados com medicamentos imunossupressores como corticoides, ciclofosfamida, azatioprina e outras drogas. O tratamento adequado é determinado obviamente pelo tipo e fase da doença autoimune e também pelo estado geral do paciente.

### Sem medo de errar

Se observarmos os sinais apresentados em Ana Clara, temos:

- Moleza
- Sonolência
- Baixa vitalidade
- Hipotensão arterial
- Inchaço na região da garganta

Esses sinais são compatíveis com uma doença autoimune relacionada especificamente a um órgão, a tireoide de Hashimoto. Nessa doença, o próprio sistema imunológico do indivíduo produz anticorpos contra antígenos da tireoide. Além disso, células TH1 também são sensibilizadas e ativadas gerando uma resposta celular contra esses mesmos antígenos próprios. Ocorre uma resposta

de hipersensibilidade tardia (*delayed-type hypersensitivity* – DTH), que gera uma alta infiltração leucocitária (linfócitos, macrófagos e plasmócitos) na tireoide. Essa infiltração folículos linfáticos e centros germinativos que levam a uma resposta inflamatória. É essa inflamação que resulta na formação de um “papo”, ou seja, um aumento visível da glândula, característico da doença. Trata-se de uma resposta fisiológica ao hipotireoidismo, ou seja, a diminuição de produção de hormônios da tireoide. Isso ocorre, pois os autoanticorpos atacam proteínas da tiroide (tiroglobulina e tireoide peroxidase) que estão envolvidas na absorção de iodina que, diminuída, leva ao hipotireoidismo. Nesse contexto, os sintomas que Ana Clara apresentou também são compatíveis com a baixa produção de hormônios tireoidianos. Assim, nossa colega marcou uma consulta com seu endocrinologista para investigar melhor esses sinais e poder curtir com maior tranquilidade a sua formatura.

## Avançando na prática

### O primeiro desafio da pós-graduação

#### Descrição da situação-problema

Ana Clara acaba de se formar e já iniciou uma pós-graduação em Imunologia que tanto sonhou. Seu orientador, professor José Roberto, e ela ainda estão definindo o projeto que será desenvolvido, uma vez que uma novidade acaba de surgir no grupo de pesquisas. O Professor José utiliza diferentes linhagens de camundongos em seus estudos e recebeu um grupo de animais com uma nova mutação genética que está sob investigação. Os animais apresentam sinais como dormência nos braços e pernas, alguns com paralisia e outros aparentam estar cegos. Ana Clara notou que esses sintomas são compatíveis com uma doença autoimune muito conhecida e que, coincidentemente é um tema que a aluna gostaria muito de estudar em seu projeto. Qual pode ser essa doença? Sabendo que o laboratório dispõe de metodologias em biologia celular e molecular, com a possibilidade de estudar células a fundo, como Ana Clara pode investigar esses animais? Quais células e estruturas a aluna deve estudar?

## Resolução da situação-problema

Os sintomas apresentados pelos animais são compatíveis com esclerose múltipla, uma debilitação neurológica. Nessa doença, os indivíduos desenvolvem células T autorreativas que levam a lesões inflamatórias ao longo da bainha de mielina das fibras nervosas. Assim, a bainha é degradada e, conseqüentemente, os tecidos nervosos se deterioram.

Sabendo que as pessoas acometidas por essa doença apresentam fluido cefalorraquidiano com linfócitos T ativados que infiltram o tecido cerebral e causam lesões inflamatórias características, que destroem a mielina, Ana Clara pode propor investigação dessas células nos camundongos e verificar a ligação delas com os antígenos presentes na bainha de mielina. A ausência funcional da mielina – isolamento das fibras nervosas – leva a disfunções neurológicas, como os sinais apresentados pelos camundongos mutantes.

Outro ponto que Ana Clara pode abordar em seu projeto é o estudo das células nervosas, verificando a estrutura da bainha da mielina desses animais para investigar uma possível degradação. Após essas etapas, utilizando ferramentas de biologia molecular, Ana Clara e o grupo de pesquisas do professor José Roberto pode investigar os genes possivelmente relacionados à esclerose múltipla e tentar identificar a mutação dessa nova espécie de camundongos. Dessa maneira, Ana Clara iniciou muito bem sua carreira científica e espera que suas descobertas futuras possam contribuir muito com a sociedade.

### Faça valer a pena

**1.** Em certos casos, quando os mecanismos que previnem a tolerância imunológica falham, a resposta imune é desencadeada contra moléculas do próprio indivíduo. Nesse contexto, os antígenos que induzem tolerância são os \_\_\_\_\_ enquanto os que levam a uma resposta imunológica de fato são os \_\_\_\_\_, e isso vai depender da forma como o \_\_\_\_\_ é apresentado ao \_\_\_\_\_.

Selecione a alternativa que contém a palavras que completam as lacunas corretamente.

- a) Tolerógenos, imunógenos, antígeno, sistema imune.
- b) Imunógenos, tolerógenos, antígeno, sistema imune.
- c) Tolerógenos, antígenos, imunógeno, linfonodo.
- d) Tolerógenos, antígenos, imunógeno, sistema imune.
- e) Imunógenos, tolerógenos, antígeno, sistema linfático.

**2.** O processo que garante que linfócitos maduros sejam irresponsáveis aos antígenos próprios expressos nos órgãos linfoides primários é chamado de:

Selecione a alternativa correta:

- a) Tolerância Primária.
- b) Seleção negativa.
- c) Expansão clonal.
- d) Seleção própria.
- e) Tolerância central.

**3.** Quando linfócitos B imaturos reconhecem antígenos próprios com alta afinidade na medula óssea, os mecanismos de tolerância central entram em ação para impedir que essas células possam eventualmente causar reações autoimunes. Quais são esses mecanismos?

Selecione a alternativa correta:

- a) Deleção de receptores, inativação das células, eliminação das células.
- b) Edição de receptores, deleção das células, anergia.
- c) Bloqueio de receptores, deleção das células, eliminação do antígeno próprio.
- d) Secreção de receptores, eliminação das células, apoptose.
- e) Edição de receptores, deleção das células, eliminação do antígeno próprio.

# Referências

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

JANEWAY, C. A. et al. **Imunobiologia**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

KINDT, T. J.; GOLDSBY, R. A.; OSBORNE, B. A. **Imunologia de Kuby**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

MOURA, P. Preciso mesmo tomar vacina? Quando a decisão pessoal chega à saúde pública. In: **UOL notícias Ciência e Saúde**. Disponível em: <<https://noticias.uol.com.br/saude/ultimas-noticias/redacao/2017/03/27/quais-sao-os-perigos-de-nao-tomar-vacina.htm>>. Acesso em: 20 nov. 2017.

PINHEIRO, P. **Doenças autoimunes – causas, sintomas e tratamento**. 2017. Disponível em: <<https://www.mdsaude.com/2008/10/doena-auto-imune.html>>. Acesso em: 30 nov. 2017.

STOKSTARD, E. Vaccine-Autism Link Dealt Blow. In: **Science Magazine**. Disponível em: <<http://science.sciencemag.org/content/301/5639/1454.1>>. Acesso em: 20 nov. 2017.

T-CELL MODULATION GROUP. In: **Prifysgol Caerdydd** (Cardiff University). Disponível em: <<http://www.tcells.org/scientific/memory/>>. Acesso em: 10 nov. 2017.

WESSEL, L. Four vaccine myths and where they came from. In: **Science Magazine**. Disponível em: <<http://www.sciencemag.org/news/2017/04/four-vaccine-myths-and-where-they-came>>. Acesso em: 20 nov. 2017.



# Imunologia aplicada às ciências biológicas

## Convite ao estudo

Agora que já conhecemos os elementos do sistema imunológico e os diferentes tipos de respostas imunes, podemos abordar a imunologia por uma ótica mais prática. Assim, vamos viajar por algumas complicações que podem surgir quando o sistema imunológico se encontra em desequilíbrio. Entender os aspectos dessas alterações irá nos deixar preparados para aplicar nossos conhecimentos e estudar importantes áreas de atuação do profissional da área de ciências biológicas, como o desenvolvimento de vacinas e as metodologias utilizadas para o estudo dos anticorpos e outros elementos do sistema imunológico.

Ao final dessa jornada imunológica, você terá completado a base de seu conhecimento a respeito dos microrganismos e das reações imunológicas desencadeadas por eles, além de, principalmente, conhecer amplamente a função e o funcionamento do sistema imunológico.

Sem dúvida a Imunologia é uma das áreas mais incrivelmente complexas da Biologia. É exatamente essa complexidade que levou o biólogo Rafael a se apaixonar e trabalhar nessa área. Atualmente, ele trabalha numa empresa de desenvolvimento de métodos aplicados à produção de vacinas e metodologias de imunodiagnóstico. Como os estudos científicos são a base para o desenvolvimento comercial dos produtos da empresa de Rafael, ele é o responsável por fazer a conexão entre um importante grupo de pesquisas da maior universidade de seu estado e o setor de pesquisa e desenvolvimento (P&D) da companhia. Dessa maneira, essa parceria pode trazer diversos desafios científicos para Rafael, que contará com sua excelente base

de conhecimentos imunológicos para poder contribuir tanto com a área acadêmica quanto a comercial, o que, ao final dessa cadeia, poderá beneficiar a população em geral.

Já imaginou como o papel da pesquisa em imunologia é importante para a manutenção da vida das pessoas? Imagine quantas vidas foram poupadas com o advento dos medicamentos que tratam doenças como Aids.

Assim, para concluirmos juntos esta última unidade, teremos, na primeira seção, o estudo das imunodeficiências, na qual poderemos caracterizar essas deficiências, abordando suas consequências e seus tratamentos. Na segunda seção, vamos estudar a produção e aplicação de vacinas e soros. E na última seção, o assunto será o imunodiagnóstico com o estudo da detecção de anticorpos e antígenos e os métodos de avaliação da imunidade celular.

Dessa maneira, vamos fechar nossa viagem pelo sistema imunológico e a complexidade orquestrada de seus processos. Mecanismos que buscam proteger o nosso organismo de agentes patológicos e garantir nossa saúde e equilíbrio fisiológico.

# Seção 4.1

## Imunodeficiências

### Diálogo aberto

Rafael é um pesquisador chave na inter-relação empresa--universidade. Dessa maneira, sendo atuante na área de desenvolvimento de métodos aplicados à produção de vacinas e metodologias de imunodiagnóstico, ele tem um amplo conhecimento de diversas doenças e processos imunológicos. Assim, para aproveitar a presença do especialista na universidade, o diretor do Instituto de Biologia convidou Rafael para dar uma palestra no encontro anual dos alunos de iniciação científica. O tema proposto foi o vírus HIV e a Aids, com o objetivo de colocar em pauta um assunto que já foi muito discutido nas duas décadas passadas mas parece ter sido esquecido, visto o crescente aumento de casos no mundo todo. Quais os principais aspectos relacionados ao vírus e à essa imunodeficiência que Rafael deve abordar? De que forma ele pode apresentar tanto a infecção das células-alvo, quanto a ativação dessas células em benefício da produção das partículas virais do indivíduo acometido?

### Não pode faltar

## Imunodeficiências

Conforme já discutimos anteriormente, o sistema imune é tão complexo, e com tantos fatores e componentes envolvidos, que, inevitavelmente, é passível de apresentar falhas. Assim, com a incapacidade de discriminar o próprio, do não próprio, gera consequências relacionadas à autoimunidade. Quando o sistema imune é incapaz de proteger o organismo de agentes causadores de doenças ou de células malignas, fica determinada uma imunodeficiência.

Uma das principais consequências dessa deficiência é a maior suscetibilidade a infecções. Assim, quando essa deficiência está relacionada à imunidade humoral, a pessoa fica mais propícia a adquirir infecções por bactérias e microrganismos encapsulados, enquanto a imunodeficiência celular aumenta a suscetibilidade a infecções virais e microrganismos intracelulares.

Certos tipos de câncer também têm mais facilidade em se instalar em pacientes imunodeficientes em células T, uma vez que esses linfócitos têm um importante papel na vigilância contra vírus oncogênicos e os tumores por eles causados.

Ainda não se sabe muito sobre esse ponto, mas de forma aparentemente contraditória, algumas imunodeficiências estão ligadas a um aumento na incidência de autoimunidade.

Além disso, as imunodeficiências são heterogêneas, ou seja, envolvem diferentes componentes do sistema imune e, por isso, podem resultar em problemas no desenvolvimento ou ativação de linfócitos, ou em defeitos nos mecanismos efetores da imunidade inata e adquirida.



### Assimile

Figura 4.1 | Características das imunodeficiências que afetam os linfócitos T ou B

Característica	Deficiência de Células B	Deficiências de Células T
Suscetibilidade às infecções	Bactérias piogênicas (otite, pneumonia, meningite, osteomielite), bactérias entéricas e vírus, alguns parasitas	Pneumocystis jiroveci, muitos vírus, micobactérias atípicas, fungos
Diagnóstico Níveis séricos de Ig Reações DTH para antígenos comuns	Reduzido Normal	Normal ou reduzido Reduzido
Morfologia dos tecidos linfoides		
DTH, hipersensibilidade do tipo tardia		

Fonte: Abbas, Lichtman e Pillai (2011, p. 446)

## Imunodeficiências: Caracterização

As doenças de imunodeficiência são classificadas em dois grupos: imunodeficiências congênitas (ou primárias) e imunodeficiências adquiridas (ou secundárias). Estudaremos esses dois grupos a partir de agora.

### Imunodeficiências congênitas ou primárias

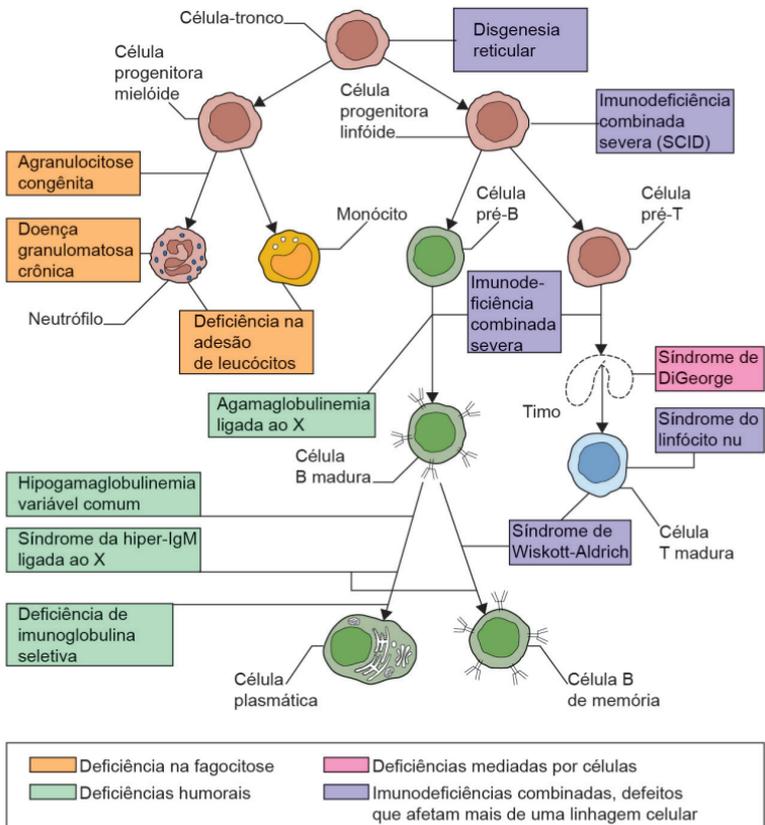
Essas doenças geralmente se manifestam na infância e adolescência, mas podem ser detectadas tardiamente na vida adulta. Mesmo que o desenvolvimento da deficiência seja grave em uma porção pequena das pessoas com essas doenças, dados dos

Estados Unidos mostram que 1 a cada 500 indivíduos nasce com problemas em algum elemento do sistema imune.

Nessa categoria de deficiência imune, a maioria das doenças é herdada, mas também podem se originar de problemas no desenvolvimento de órgãos que prejudicam sua função adequada no sistema imune. De acordo com o número e tipo dos componentes envolvidos na deficiência, podem haver maiores ou menores consequências para as respostas imunológicas do indivíduo.

As deficiências primárias afetam tanto funções da imunidade inata quanto adaptativa (ou adquirida) gerando disfunções em células linfóides (células B ou T) e células mielóides (fagócitos).

Figura 4.2 | Defeitos congênitos na hematopoiese



Fonte: Kindt, Goldsby e Osborne (2008, p. 526)

As anormalidades podem ocorrer nos diferentes estágios de desenvolvimento dos linfócitos, com o defeito na formação de enzimas, receptores e fatores de transcrição. Assim, deficiências congênitas de fagócitos e do sistema complemento levam a infecções recorrentes, uma das características das imunodeficiências.

As células B também podem apresentar defeitos em seu desenvolvimento, resultando numa produção deficiente de anticorpos e até mesmo números reduzidos de linfócitos B na circulação ou órgãos linfáticos.

No caso da imunidade adaptativa, problemas na maturação de linfócitos T também provocam defeitos da imunidade celular, além de também poder gerar uma redução de anticorpos.



### Pesquise mais

Para aprofundar seus conhecimentos sobre os defeitos na Imunidade Inata, estude o capítulo 20 em ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

## Imunodeficiências adquiridas ou secundárias

Quando a imunodeficiência não advém de um fator hereditário, mas é adquirida durante a vida, trata-se de uma imunodeficiência adquirida ou secundária. Essas doenças são causadas por dois mecanismos patogênicos principais:

- Imunossupressão em consequência de uma complicação biológica de outro processo patogênico;
- Imunodeficiência decorrente de complicações da terapia de outras doenças.



### Exemplificando

No caso de imunossupressão em consequência de uma complicação biológica de outro processo patogênico, temos como exemplo desnutrição, neoplasias e infecções. Dessa maneira, a insuficiente ingestão de proteínas, gordura, vitaminas e minerais, afeta a maturação e função das células do sistema imune, acarretando infecções recorrentes em pessoas desnutridas. Tumores de medula óssea, por exemplo, também podem afetar o crescimento e o desenvolvimento de linfócitos e outros leucócitos.

Com relação às infecções que levam à imunossupressão, temos não só o famoso HIV, mas também o vírus do sarampo, infecção por *Mycobacterium tuberculosis*, infecções crônicas de malária, entre outras.

Já no que diz respeito à imunodeficiência decorrente de complicações da terapia de outras doenças, podemos citar medicamentos imunossupressores que precisam ser utilizados no tratamento de doenças inflamatórias, em quimioterapia ou para evitar a rejeição em transplantes de órgãos, por exemplo. A remoção cirúrgica ou trauma do baço determinada por algumas doenças hematológicas, também tornam os pacientes mais suscetíveis a infecções por alguns microrganismos.

Quadro 4.1 | Imunodeficiências adquiridas.

Causa	Mecanismo
Infecção por HIV	Depleção das células T CD4+
Desnutrição proteico-calórica	Os transtornos metabólicos inibem a maturação e função dos linfócitos
Radiação e quimioterapia para o câncer	Diminuição dos precursores dos linfócitos da medula óssea
Metástases de câncer e leucemia envolvendo a medula óssea	Local reduzido de desenvolvimento de leucócitos
Imunossupressão para transplantes, doenças autoimunes	Ativação de linfócitos reduzida
Remoção do baço	Fagocitose de microrganismos diminuída

Fonte: adaptado de Abbas, Lichtman e Pillai (2011, p. 458).



Refleta

Considerando países em que muitos problemas socioeconômicos levam a população à uma condição de extrema pobreza, você acredita que essa situação pode agravar ainda mais a questão sanitária dessas regiões? De que forma a incidência de diversas infecções podem estar relacionadas à desnutrição generalizada de algumas regiões do planeta?

## Imunodeficiências: implicações

As implicações das imunodeficiências englobam uma série de alterações em elementos e respostas do sistema imunológico que, combinados, vão levar a uma série de doenças, sejam elas derivadas de processos imunológicos herdados ou adquiridos. Dessa maneira, vamos aprofundar nosso estudo em algumas delas, começando com doenças de imunodeficiência primária.



Quadro 4.2 | Algumas doenças de imunodeficiência humana primária e os defeitos genéticos básicos

Doença de imunodeficiência	Defeito específico	Função comprometida	Modo de herança *	Cromossoma defeituoso
Imunodeficiência combinada severa (SCID)	Deficiência de RAG-1/RAG-2	Não há rearranjo dos genes de Ig ou de TCR	AR	11p13
	Deficiência de ADA Deficiência de PNP	Metabólitos t-óxico nas células B e T	AR AR	20q13 14q13
	Deficiência de JAK-3 Deficiência de IL-2R $\gamma$	Sinalização defeituosa das IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 e IL-15	AR XR	19p13 Xq13
	Deficiência de ZAP-70	Sinais defeituosos do TCR	AR	2q12
Síndrome do linfócito nu	Defeito no promotor do gene do MHC de classe II	Ausência de moléculas do MHC de classe II	AR	16p13
Síndrome de Wiskott-Aldrich	Proteína do citoesqueleto (CD43)	Células T e plaquetas defeituosas	XL	Xp11
Receptor do interferon gama	Defeito no receptor do IFN- $\gamma$	Imunidade comprometida contra micobactérias	AR	6q23
Síndrome de DiGeorge	Aplasia tímica	Desenvolvimento de células B e T	AD	22q11
Ataxia telangiectasia	Defeito na quinase do ciclo celular	Baixa IgA e IgE	AR	11q22
Gamaglobulinemias	Agamaglobulinemia ligada ao X	Tirosina quinase de Bruton (Btk): ausência de células B maduras	XL XL	Xq21 Xq26
	Síndrome de hiper-IgM ligada ao X	Ligante CD40 defeituoso	Complexo	
	Imunodeficiência combinada variável	Baixa IgG e IgA e IgM variável	Complexo	
	Deficiência seletiva de IgA	IgA baixa ou ausente		
Doença granulomatosa crônica	Cyt p91phox Cyt p67phox Cyt p22phox	Não há respiração oxidativa para a morte bacteriana	XL AR AR	Xp21 1q25 16q24
Síndrome de Chediak-Higashi	Proteína de transporte intracelular defeituosa (LYST)	Incapacidade de matar bactérias	AR	1q42
Defeito na adesão de leucócitos	Integrina $\beta$ 2 defeituosa (CD18)	Extravasamento de leucócitos	AR	21q22

\*AR = autossômica recessiva; AD = autossômica dominante; XL = ligada ao X; "Complexo" = indica condições para as quais não há dados genéticos precisos disponíveis, podendo envolver interação de vários loci.

Fonte: Kindt, Goldsby e Osborne (2008, p. 527)

## Doença granulomatosa crônica (CGD)

Trata-se de uma doença hereditária na qual mutações afetam componentes enzimáticos de fagócitos. Assim, há uma produção defeituosa de espécies reativas de oxigênio por essas células, resultando em infecções bacterianas e fúngicas recorrentes. Isso porque os fagócitos falham na destruição dos microrganismos fagocitados. Assim, há um estímulo de macrófagos mediados por células T, o que resulta na formação de granulomas formados por macrófagos ativados, e leva a um aspecto histológico característico e que determina o nome do distúrbio. É uma doença rara, porém, frequentemente fatal.

## **Imunodeficiência combinada severa ou *severe combined immunodeficiency* (SCID)**

É uma família de deficiências que afetam tanto a imunidade humoral, quanto a imunidade celular. De acordo com o gene afetado, o indivíduo pode apresentar um ou mais fenótipos em células linfoides, sendo todos caracterizados por disfunções em células T que também podem afetar células B e/ou Natural Killer (NK). Essa doença resulta em infecções graves recorrentes e, muitas vezes, fatais nos primeiros anos de vida. As crianças com SCID apresentam diarreia crônica, pneumonia, lesões cutâneas, de boca e garganta e outras infecções oportunistas. Mesmo vacinas atenuadas podem causar infecção e a doença. A tabela abaixo aponta as principais imunodeficiências combinadas graves e algumas de suas características.

## Quadro 4.3 | Imunodeficiências combinadas graves

Doença	Deficiências Funcionais	Mecanismo de Defeito
<b>Defeitos na sinalização de citocinas</b>		
SCID ligada ao X	A redução acentuada nas células T; células B normais ou aumentadas; Ig sérica reduzida	As mutações da cadeia comum $\gamma$ do receptor da citocina; desenvolvimento defeituoso das células T na ausência de sinais derivados de IL-7
Formas recessivas autossômicas	Redução acentuada nas células T; células B normais ou aumentadas; Ig sérica reduzida	Mutações nos <i>IL2RA</i> , <i>IL7RA</i> , <i>JAK3</i>
<b>Defeitos nas vias de salvamento dos nucleotídeos</b>		
Deficiência de ADA	Redução progressiva nas células T, B e NK; Ig sérica reduzida	A deficiência de ADA provocada pelas mutações no gene, levando a acúmulo de metabólitos tóxicos nos linfócitos
Deficiência de PNP	Redução progressiva nas células T, B e NK; Ig sérica reduzida	A deficiência de PNP provocada pelas mutações no gene, levando a acúmulo de metabólitos tóxicos nos linfócitos
<b>Defeitos na recombinação de V(D)J</b>		
Recombinação da deficiência de RAG1 ou RAG2*	Redução das células T e B; Ig sérica reduzida; ausência ou deficiência de células T e B	Defeito de clivagem durante a recombinação de V(D)J; mutações no <i>RAG1</i> ou <i>RAG2</i>
Reparo da quebra da fita dupla e ponto de controle	Redução das células T e B; Ig sérica reduzida; ausência ou deficiência de células T e B	Falha em resolver os ganchos durante a recombinação de V(D)J; mutações no <i>ARTEMIS</i> , <i>DNA-PKcs</i> , <i>CERNUNNOS</i> , <i>LIG4</i> , <i>NBS1</i> , <i>MRE11</i> , <i>ATM</i>
<b>Desenvolvimento de timo defeituoso</b>		
Controle do ponto pré-TCR defeituoso	Redução de células T; células B normais ou reduzidas; Ig sérica reduzida	Mutações no <i>CD45</i> , <i>CD3D</i> , <i>CD3E</i> , <i>ORAI1</i> (Componente do canal CRAC), <i>STIM1</i>
Síndrome de DiGeorge	Redução de células T; células B normais; Ig sérica normal ou reduzida	Exclusão 22q11; T-box 1 ( <i>TBX1</i> ) mutações do fator de transcrição
Deficiência de FoxN1	Aplasia do timo com o desenvolvimento das células defeituosas do timo	Mutação recessiva no <i>FOXN1</i>
<b>Outros defeitos</b>		
Disgenesia reticular	Redução de células T, B e mieloides	Mutação no <i>AK2</i>
<p>ADA, adenosina deaminase; AK2, adenilato inase 2; ATM, ataxia-telangiectasia modificada; CRAC, canal ativado de liberação de cálcio; DNA-PKcs, subunidade catalítica da proteína cinase dependente de DNA; LIG4, DNA ligase 4; MRE11, recombinação meiótica homóloga 11; NBS1, Síndrome de interrupção de Nijmegen 1; PNP, purina nucleosídeo fosforilase.</p> <p>* As mutações hipomórficas nos RAG genes e no ARTEMIS podem contribuir para a síndrome de Omenn.</p>		

Fonte: Abbas, Lichtman e Pillai (2011, p. 450)

## Síndrome de Wiskott-Aldrich

É uma doença ligada ao cromossomo X, com diferentes graus de imunodeficiência em células T e B, que podem acometer múltiplos órgãos e sistemas. Assim, a ativação defeituosa de células T, e também a perda de função em células B contribuem para essa patogênese, que se agrava com o aumento da idade. As infecções bacterianas recorrentes,

junto à perda gradual das respostas celulares e humorais, vão agravando o quadro do paciente evidenciando ainda mais os sintomas como eczema e trombocitopenia (baixa contagem de plaquetas), que, dependendo da gravidade da doença, pode levar à uma hemorragia fatal.



**Pesquise mais**

Estude outras doenças de imunodeficiência primária no capítulo 20 em KINDT, T. J.; GOLDSBY, R. A.; OSBORNE, B. A. **Imunologia de Kuby**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

Agora que já conhecemos algumas implicações de imunodeficiências hereditárias, abordaremos as consequências da imunodeficiência adquirida.

### **Hipogamaglobulina adquirida**

A origem dessa doença ainda não é determinada, mas os portadores dessa deficiência geralmente apresentam baixos níveis de imunoglobulina total, sendo seu principal sintoma a infecção recorrente. A princípio, não há evidências de que essa doença possa ser transmitida de mãe para filho, ainda que, ao nascer, as crianças apresentem baixos níveis de anticorpos que são advindos da mãe.

### **Imunodeficiência induzida por agentes**

Nesse caso, a deficiência imune é ocasionada pela exposição a agentes químicos ou biológicos, que induzam um estado de imunossupressão. São exemplos desses agentes as drogas utilizadas no tratamento de doenças autoimunes, na prevenção contra rejeição de tecidos e órgãos e no tratamento de tumores, no qual a quimioterapia pode danificar as células imunes.

### **Síndrome da imunodeficiência adquirida (Sida ou Aids)**

Nesse cenário, é inevitável falarmos em HIV, que pode ser considerada como a mais complexa imunodeficiência adquirida. Assim, a infecção por HIV leva o hospedeiro a um profundo estado de imunossupressão, o que o deixa vulnerável a diversas infecções oportunistas, desenvolvimento de tumores, degeneração do sistema nervoso central, entre outras

consequências. Isso ocorre pois o vírus infecta diversas células do sistema imune como células T CD4+ auxiliares, macrófagos e células dendríticas, provocando também a destruição do tecido linfóide e depleção das células relacionadas.



### Assimile

Para assimilar as características imunológicas da Aids, estude as páginas 458 a 468 em ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

## Imunodeficiências: Tratamentos

Pensando nas imunodeficiências herdadas, podemos imaginar que o tratamento de qualquer disfunção de ordem genética representa um desafio para a medicina. Nesse contexto, cada tipo de imunodeficiência necessitará de um tipo específico de tratamento. No caso de deficiências que têm como consequência a insuficiência na produção de certos anticorpos, por exemplo, as terapias incluem a administração de imunoglobulinas a fim de manter os anticorpos num nível orgânico adequado. Outra forma de tratamento, pode ser o transplante de medula óssea, com objetivo de que o paciente passe a produzir os elementos imunológicos os quais não seria capaz naturalmente.

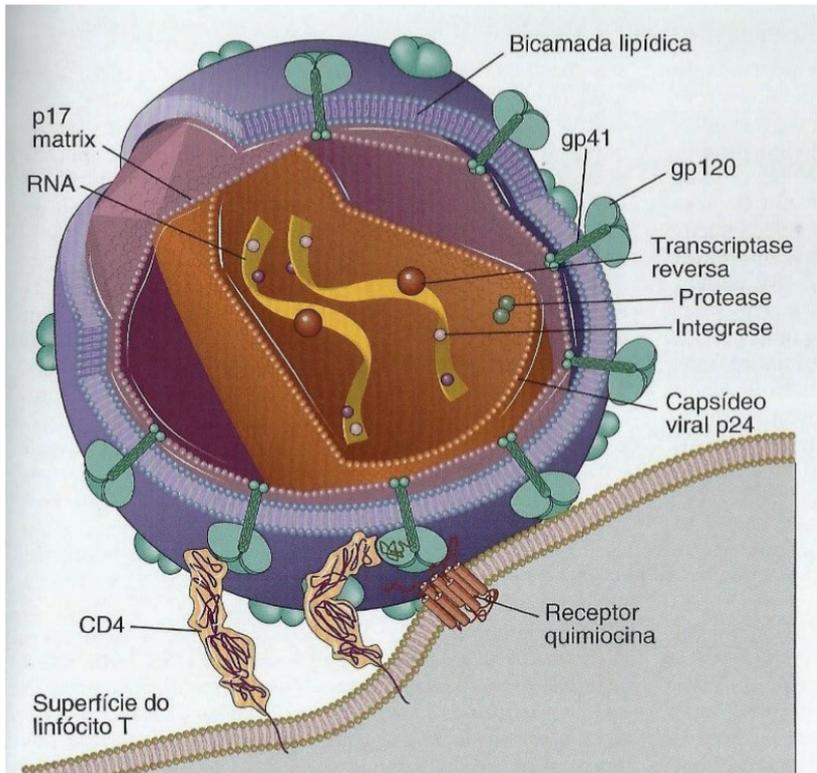
Com relação às imunodeficiências secundárias ou adquiridas, o tipo de deficiência também determinará o tratamento a ser aplicado sendo necessário, de maneira geral, a eliminação ou controle do fator etiológico. Por exemplo, após um tratamento quimioterápico, é possível a realização do autotransplante. Ou seja, o paciente pode "repor" suas células imunes eliminadas com o uso das drogas citotóxicas. No caso de uma deficiência causada por desnutrição, uma dieta adequada pode restaurar o equilíbrio imunológico do indivíduo. No caso de doenças como a Aids, são utilizados medicamentos antivirais que sejam capazes de impedir a replicação do HIV, como aqueles que interferem na transcrição reversa do RNA em DNAc. Uma das drogas mais utilizadas nesse processo é o AZT (azidotimidina). Muitos grupos de pesquisas ao redor do mundo todo estão colocando seus esforços na busca por uma vacina anti-HIV, o que, sem dúvida, seria a melhor maneira de controlar essa pandemia. O desenvolvimento de vacinas é um dos temas de nossa próxima seção.

## Sem medo de errar

O biólogo Rafael está muito satisfeito em poder compartilhar seus conhecimentos com alunos jovens superinteressados em imunologia. Assim, Rafael abordou os seguintes aspectos acerca do tema HIV/Aids:

- O vírus HIV é um retrovírus que possui duas fitas idênticas de RNA embaladas com um núcleo de proteínas virais e envoltas por um envelope de duas camadas de fosfolipídios que advém da célula hospedeira.
- A infecção por HIV tem seu início quando a glicoproteína do envelope viral se liga ao receptor CD4 e ao receptor de quimiocinas. Assim, depois que o virion entra na célula hospedeira, as enzimas iniciam os mecanismos de replicação viral.

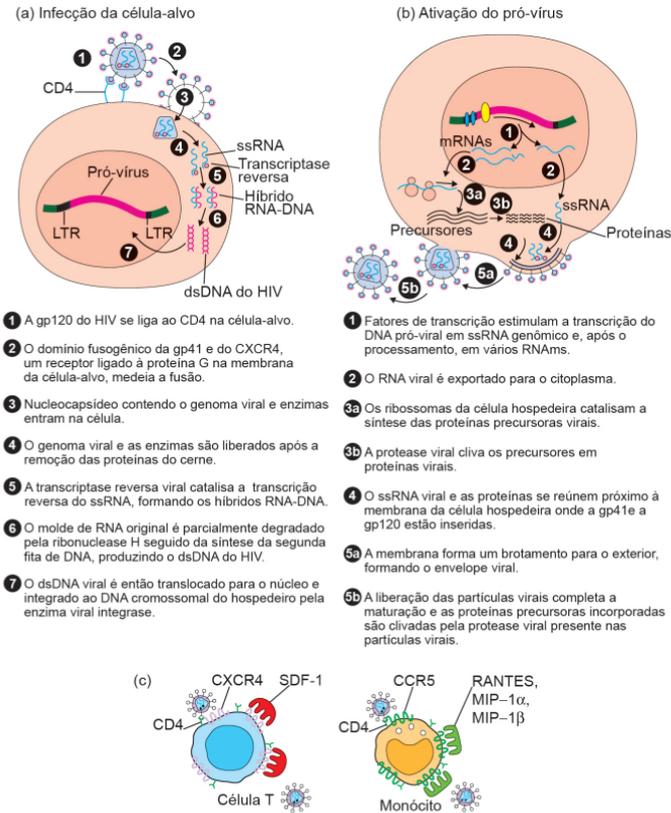
Figura 4.3 | Estrutura do HIV



Fonte: Abbas, Lichtman e Pillai (2011, p. 459)

- Assim que se completam as transcrições do RNA viral, inicia-se a expressão de proteínas virais e a síntese de partículas virais infecciosas maduras.

Figura 4.4 | Infecção da célula alvo (a) e ativação do pró-vírus (b).



(a) Após a entrada do HIV na célula e a formação da dsDNA, a integração do DNA viral no genoma do hospedeiro cria o pró-vírus. (b) O pró-vírus permanece latente até que eventos na célula infectada provoquem sua ativação, levando à formação e liberação das partículas virais. (c) Embora o CD4 se ligue à glicoproteína do envelope do HIV-1,

um segundo receptor é necessário para a entrada e infecção. As cepas de HIV-1 com o tropismo para as células T usam o co-receptor CXCR4, enquanto as cepas com o tropismo para os macrófagos usam o CCR5. Os dois receptores para quimiocinas e seus ligantes normais podem bloquear a infecção da célula pelo HIV.

Fonte: Kindt, Goldsby e Osborne (2008, p. 543)

- A Aids inicia-se como uma infecção aguda, controlada parcialmente pela resposta imune adquirida, avançando para uma infecção progressiva crônica dos tecidos linfoides periféricos. Inicialmente o vírus infecta as células T CD4+ de memória das mucosas e leva a morte de muitas células infectadas. Ao atingir a fase crônica, o vírus se dissemina e, posteriormente,

é replicado continuamente nos linfonodos e baço, causando intensa destruição celular.

- Uma das principais consequências da infecção por HIV é a perda de células T CD4+ infectadas diretamente pelo vírus, tanto por lise direta quanto através da perda de função. Além disso, macrófagos, células dendríticas e células dendríticas foliculares infectadas ou lesionadas pelo HIV também vão contribuir para a progressão da imunodeficiência.

Figura 4.5 | Características clínicas da infecção por HIV.

Fase da Doença	Característica Clínica
Doenças aguda pelo HIV	Febre, dores de cabeça, dor de garganta com faringite, linfadenopatia generalizada, erupções
Período de latência clínica	Diminuição da contagem de células T CD4+ sanguíneas
AIDS	Infecções oportunistas Protozoários (Toxoplasma, Cryptosporidium) Bactérias (Mycobacterium avium, Nocardia, Salmonella) Fungos (Candida, Cryptococcus neoformans, Coccidioides immitis, Histoplasma capsulatum, Pneumocystis) Tumores Linfomas (incluindo os linfomas das células B associados ao EBV) Sarcoma de Kaposi Carcinoma cervical Encefalopatia Síndrome de perda de peso

Fonte: Abbas, Lichtman e Pillai (2011, p. 459)

Além dos aspectos abordados acima, ao final da palestra, Rafael enfatizou a importância da prevenção contra Aids e DSTs, afinal ninguém melhor que os biólogos e agentes da saúde para serem os maiores propulsores da proteção.

## Avançando na prática

### Tirando vantagem da desvantagem imunológica

#### Descrição da situação-problema

Empolgada com a palestra do biólogo Rafael, a aluna de iniciação científica de imunologia, Ana Vitória, decidiu incluir em seu projeto alguns experimentos *in vitro*. Assim, o orientador de Ana pediu que a aluna fizesse uma pesquisa prévia, a fim de verificar a viabilidade

desse tipo de experimentação animal. Assim, Ana Vitória precisa verificar se existem modelos animais que podem ser utilizados em estudos de imunodeficiências, quais características esses modelos podem apresentar e qual sua aplicação?

### **Resolução da situação-problema**

Ana Vitória, em seus estudos buscando o melhor modelo de pesquisa para sua iniciação científica, verificou que os imunologistas utilizam, principalmente, dois modelos animais para diversos objetivos experimentais. O primeiro deles é o experimento utilizando camundongos nude que são atímicos. Isto é, em decorrência de um defeito genético, não apresentam o timo e, conseqüentemente, não apresentam resposta imune mediada por células, sendo também incapazes de produzir anticorpos para a maioria dos antígenos. Uma das principais aplicações desse modelo animal está em estudos que envolvem a aplicação de aloenxertos e xenoenxertos, ou seja, transplantes de tecidos, órgãos ou mesmo tumores. Outro modelo muito utilizado são os camundongos SCID, que apresentam uma mutação recessiva autossômica que causa uma deficiência severa em linfócitos maduros. Dessa maneira, esses animais apresentam células B e T precoces, ou seja, essas células são incapazes de se diferenciar em linfócitos B e T maduros. Esses animais são úteis nos estudos que visam esclarecer as possíveis causas da imunodeficiência de células T e B, além das investigações sobre mecanismos de rejeição de enxertos. Outra aplicação importante é o uso desse modelo para testes de estratégias terapêuticas ou profiláticas contra infecções pelo HIV de tecidos linfoides humanos transplantados.

Assim, após concluir sua pesquisa, Ana Vitória e seu orientador ficaram extremamente empolgados com a inclusão de modelos animais em seu projeto. Ana já está até considerando incrementar esse projeto para torná-lo tema de sua dissertação de mestrado.

### **Faça valer a pena**

- 1.** A enorme complexidade do sistema imunológico o deixa fatalmente suscetível a falhas, dentre elas, a incapacidade de proteger o organismo de agentes causadores de doenças. Nesse contexto, são conseqüências das imunodeficiências:

I – Maior susceptibilidade a infecções.

II – Desenvolvimento de certos tipos de câncer.

III – Aumento da incidência de autoimunidade.

IV – Maior susceptibilidade a rejeição de transplantes.

Selecione a alternativa que apresenta apenas as consequências relacionadas a imunodeficiência:

a) I, II, III e IV.

b) I, II e III.

c) Apenas I.

d) I e II.

e) I, II e IV.

- 2.** As doenças de imunodeficiência podem ser divididas em dois grupos: as imunodeficiências primárias e imunodeficiências secundárias. São características dessas doenças, respectivamente:

Selecione a alternativa correta:

a) São hereditárias/ Podem decorrer de complicações da terapia de outras doenças.

b) Passam da mãe para o filho na hora do parto/ Podem decorrer de complicações biológicas de outras doenças.

c) Passam da mãe para o filho por via placentária/ Podem decorrer de complicações da terapia de outras doenças.

d) Podem decorrer de complicações da terapia de outras doenças/ São hereditárias.

e) São hereditárias/ São causadas por mutações genéticas tardias.

- 3.** As consequências das imunodeficiências contemplam diversas alterações do sistema imunológico que podem ocasionar uma série de doenças, e ser de origem genética ou adquirida ao longo da vida do indivíduo.

Nesse contexto, são exemplos de imunodeficiências adquiridas:

a) Doença granulomatosa crônica, SCID e Aids.

b) Aids, hipogamaglobulina adquirida e SCID.

c) Síndrome de Wiskott-Aldrich, Aids e imunodeficiência nutricional.

d) Hipogamaglobulina adquirida, Aids e imunodeficiência induzida por quimioterapia.

e) Doenças granulomatosa crônica, SCID e Síndrome de Wiskott-Aldrich.

## Seção 4.2

### Produção e aplicação de vacinas e soros

#### Diálogo aberto

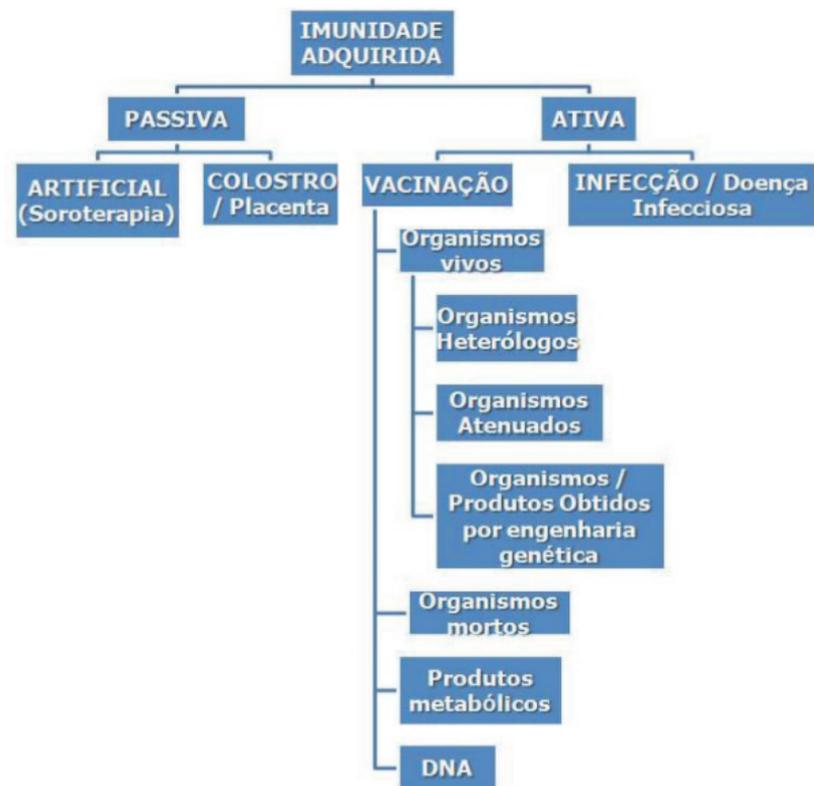
Rafael, o pesquisador da área de produção de vacinas e soros, está participando de uma feira científica que recebe um público muito heterogêneo, incluindo alunos de graduação, pós-graduação, pesquisadores profissionais e também pessoas comuns da própria comunidade. O slogan da empresa de Rafael, claramente destacado na frente do seu stand, é “Nossa missão é salvar vidas”. De que forma Rafael pode demonstrar aos seus espectadores a importância da vacinação do quesito “salvar vidas”? Atraídos pela importância desse assunto, muitos estudantes abordaram o pesquisador em busca de informações sobre a empresa e sobre as linhas de pesquisas que ela contempla. Um estudante em específico tem muitas dúvidas sobre as etapas do processo de produção de soros. De que forma Rafael pode esclarecer essas etapas para o aluno?

#### Não pode faltar

Nesta seção, vamos trabalhar uma abordagem um pouco mais prática dentro de imunologia, visto que falaremos sobre o desenvolvimento, produção e aplicação de vacinas e soros. Ambos são produzidos com o objetivo de proteger o paciente contra agentes patogênicos, os antígenos. No entanto, as vacinas atuam no cenário de imunoprevenção, ou seja, antes do contato com o indivíduo. A vacina irá estimular o sistema imune a produzir anticorpos contra um determinado microrganismo para que, no momento certo, o organismo “saiba” como se defender. Enquanto isso, os soros são substâncias que apresentam anticorpos já prontos para combater um agente patogênico, uma substância tóxica ou algum tipo de veneno. Ele permite um combate rápido ao agente invasor, uma vez que, na situação de uma picada de cobra, por exemplo, o organismo não teria

tempo de produzir anticorpos para neutralizar a toxina. Por isso, vamos aprofundar nosso conhecimento nessas duas substâncias essenciais na proteção de nosso organismo em situações de perigo imunológico.

Figura 4.9 - Formas de aquisição de imunidade pelos organismos vertebrados



Fonte: <<http://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/patologia/HELIOJOSEMONTASSIER/aula-12--vacinas-e-soros-hiperimunes-2016.pdf>>. Acesso em: 17 dez. 2017.

Conforme podemos observar no fluxograma acima, um indivíduo pode ser imunizado basicamente de maneira ativa ou passiva. A imunização passiva pode ser artificial, por meio da soroterapia (no caso da administração de um soro antiofídico, por exemplo), ou natural (via placentária ou pela amamentação: colostro). Já a imunização ativa é feita quando ocorre uma infecção, ou seja, o indivíduo entra em contato com um agente patogênico e passa a ser imune ao mesmo, ou por meio da vacinação.



## Assimile

Para que você se situe nesse novo assunto, assista ao vídeo abaixo sobre as principais características e diferenças entre vacinas e soros.

BIOLOGIA COM SAMUEL CUNHA. Soro e Vacina - Principais Diferenças - Imunologia. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=Ltu7uYneynk>>. Acesso em: 17 dez. 2017. (Vídeo do Youtube)

## Demonstração do desenvolvimento e produção de vacinas

A história da imunologia está entremeada por descobertas muito importantes como as vacinas. Doenças como a varíola só puderam ser erradicadas graças à essa incrível substância que salva muitas vidas até hoje.



## Assimile

A história da vacinação começa com o médico inglês Edward Jenner no final do século XVIII. Ele observou que mulheres que ordenhavam vacas que tinham se recuperado de vaccínia – uma doença não letal para humanos – não contraíam varíola. Edward injetou o material de uma lesão de vaccínia no braço de um garoto de 8 anos de idade e, posteriormente, aplicou intencionalmente um inócuo de varíola no mesmo menino, o qual não desenvolveu a doença. Edward Jenner chamou esse procedimento de vacinação, do latim *vaccinus*, relativo a vacas.

Ainda hoje, muitos institutos de pesquisas buscam vacinas para doenças ainda muito perigosas para a humanidade como malária, tuberculose, Aids e até mesmo contra o câncer. Além disso, estudos ainda em execução buscam melhorar a eficiência e segurança de vacinas já utilizadas para que os custos de sua produção sejam reduzidos e elas possam ser distribuídas cada vez mais amplamente.

O desenvolvimento das vacinas é um processo lento e custoso que exige o envolvimento de muitas pessoas, muitos recursos e muitos experimentos laboratoriais. Esses testes são muito rígidos uma vez que a vacinação é realizada num grande número de indivíduos saudáveis. Assim, a pesquisa básica em imunologia vem contando cada vez mais com os avanços das técnicas de biologia molecular e engenharia genética para melhorar o processo, a fim de maximizar a resposta imune contra epítopos e simplificar a liberação de novas vacinas.

O sucesso da vacinação está diretamente ligado a propriedades do agente patogênico como a capacidade de estabelecer latência, de sofrer variação antigênica e de interferir na resposta imune do hospedeiro. Isso ilustra a dificuldade no desenvolvimento de uma vacina eficaz contra o HIV, por exemplo, uma vez que esse vírus é altamente variável. Além disso, as melhores vacinas desenvolvidas são aquelas que estimulam o desenvolvimento de células B produtoras de anticorpos que têm vida longa (plasmócitos), assim como linfócitos B de memória.

A partir de agora, vamos falar sobre as principais abordagens para a vacinação que estão em desenvolvimento, considerando suas principais vantagens e desvantagens.

Quadro 4.5 | Tipos de vacinas

Tipo de Vacina	Exemplos
Bactéria viva atenuada ou morta	Bacilo de Calmette-Guérin, cólera
Vírus vivos atenuados	Pólio, raiva
Vacinas de subunidades (antígeno)	Toxóide tetânico, toxóide diftérico
Vacinas conjugadas	<i>Haemophilus influenzae</i> , pneumococo
Vacinas sintéticas	Hepatite (proteínas recombinantes)
Vacinas virais	Ensaio clínico de antígenos do HIV em vetor canarypox
Vacinas de DNA	Ensaio clínico em andamento para várias infecções

Fonte: Abbas, Lichtman e Pillai (2011, p. 361)

## Vacinas atenuadas (agente patogênico vivo)

Essas vacinas são feitas por meio do uso de microrganismos que perderam sua capacidade de causar doença, ou seja, vírus e bactérias que são capazes de se multiplicar, mas apresentam virulência atenuada. No entanto, o princípio dessa imunização é que esses agentes mantenham sua imunogenicidade, que é a capacidade de indução de todas as respostas imunológicas inatas e adaptativas sendo, portanto, a maneira mais adequada de se realizar um processo de imunização. Naturalmente, a principal preocupação quanto ao uso desse tipo de imunização é a segurança. Hoje, as vacinas bacterianas atenuadas ou mortas são eficazes por curtos períodos, ao contrário das vacinas virais contra pólio, sarampo e febre amarela, por exemplo.

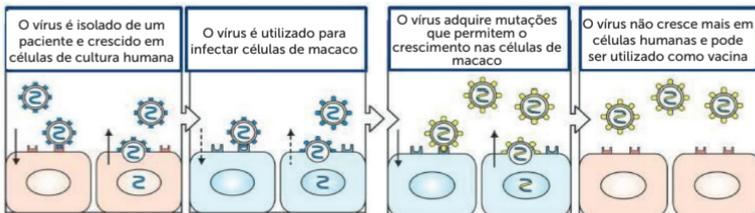


Pensando nos tipos de vacinas utilizadas e na heterogeneidade da população que geralmente participa das campanhas de imunização, quais os principais itens de segurança que uma vacina deve apresentar? Você acha que vacinas atenuadas representam uma ameaça para pessoas imunocomprometidas?

A produção de vacinas pode envolver diferentes etapas de acordo com o tipo de agente infeccioso em questão. No caso de vírus, um dos procedimentos mais utilizados é a atenuação pelo crescimento seletivo em células de origem diferente da do hospedeiro natural do patógeno. Outra maneira, é a passagem repetida do microrganismo em cultura de células em condições de carência nutricional, por exemplo, para que o agente perca os mecanismos infecciosos necessários para a colonização do hospedeiro natural.



Figura 4.6 | Atenuação viral através do crescimento seletivo em células não humanas



Fonte: Janeway, Travers, Walport e Shlomchik (2002, p. 610)

## Vacinas inativadas (agente patogênico morto)

Nesse caso, apesar de manterem a sua imunogenicidade, os microrganismos não apresentam capacidade replicativa. Assim, para a obtenção desse tipo de vacina, os agentes infecciosos são tratados com agentes físicos, como radiação UV ou calor, ou químicos, como formol por exemplo. Nesse caso, raramente as pessoas vacinadas apresentam efeitos colaterais, ainda que seja necessária a utilização de maiores quantidades de antígenos e, eventualmente, doses múltiplas. Uma das vacinas mais utilizadas é a vacina do vírus influenza, que é feita com o vírus inativado.



Acesse o material do Instituto Butantan que ilustra a produção de vacinas. MIYAKI, Cosue. Entenda como é produzida uma vacina. Instituto Butantan. Dezembro, 2013. Disponível em: <<https://www.abc.org.br/IMG/pdf/doc-4906.pdf>>. Acesso em: 17 dez. 2017.

Além das vacinas com microrganismos atenuados ou inativados, existem outras formas de produção. O desenvolvimento das vacinas sintéticas baseia-se nos antígenos ou epitopos mais imunogênicos, os quais são sintetizados em laboratório. As vacinas contra o HPV são um exemplo de vacina feita com antígenos sintéticos. Assim, prevenindo a infecção por HPV, essa vacina também pode ser considerada uma vacina preventiva contra o câncer.

As vacinas de DNA, que ainda estão em fase de aprimoramento, utilizam a inoculação de um plasmídeo contendo DNA complementar (cDNA) que codifica para um antígeno proteico que provoca respostas imunes celulares e humorais.

Figura 4.7 | Tipos de vacinas comumente administradas em humanos

Tipo de vacina	Doença	Vantagens	Desvantagens
Viva atenuada	Sarampo Caxumba Pólio (vacina Sabin) Rotavírus Rubéola Tuberculose Varicela Febre amarela	Geração de uma resposta imune forte; imunidade duradoura com poucas doses	Requer estoque refrigerado; pode mutar para uma forma virulenta
Morta ou inativada	Cólera Influenza Hepatite A Praga Pólio (vacina Salk) Raiva	Estável; mais segura que as vacinas vivas; não é necessário manter refrigerado	Resposta imune mais fraca do que as vacinas vivas; necessita estímulos
Toxóide	Difteria Tétano	O sistema imune torna-se ativado para reconhecer toxinas bacterianas	
Subunidade (endotoxina inativada)	Hepatite B Pertussis Pneumonia estreptocócica	Presença de antígenos específicos diminuem as chances de reações adversas	Difícil de desenvolver

Conjugada	<i>Haemophilus influenzae</i> tipo B Pneumonia estreptocócica	Ativa o sistema imune infantil para reconhecer certas bactérias	
DNA	Em testes clínicos	Forte resposta imune humoral e celular; baixo custo de produção	Não disponível ainda
Vetor recombinante	Em testes clínicos	Mimetiza uma infecção natural, resultando uma forte resposta imune	Não disponível ainda

Fonte: Adaptado de Kindt, Goldsby e Osborne (2008, p. 514)

## Aplicação de vacinas

Conforme citado anteriormente, a vacinação confere uma imunização do tipo ativa, porém essa proteção não é imediata. Isso quer dizer que o sistema imunológico do indivíduo vacinado precisa de alguns dias, e até semanas, para que ele esteja protegido contra determinado patógeno. Assim, como consequência da vacinação, ocorre a produção de anticorpos, ativação de linfócitos T efetores, ambos específicos contra o agente patogênico ou e/ou seus produtos tóxicos. Acontece ainda a geração de células B e T de memória que podem durar por muitos anos, dependendo do tipo de vacina e agente infeccioso em questão. Portanto, o objetivo da imunização ativa é a criação de imunidade protetora e de uma memória imunológica.

Nesse contexto, a vacinação inicia-se em bebês ao redor dos 2 meses de vida. Cada país possui um calendário de vacinação específico baseado, obviamente, nos tipos de doenças e patógenos mais frequentes, além das características peculiares populacionais. É graças a esses programas de vacinação que, nas últimas décadas, houve uma marcante diminuição de doenças comuns ao redor do mundo.



### Pesquise mais

Nos sites abaixo do Ministério da Saúde, você pode se informar mais sobre o quadro brasileiro de vacinação além de outros dados relevantes sobre a imunização em nosso país.

BRASIL. Ministério da Saúde amplia vacinação em todas as faixas etárias. Ministério da Saúde. 2017. Disponível em: <<http://portal.arquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/marco/03/Novo-calendario-vacinal-de-2017.pdf>>. Acesso em: 18 dez. 2017.

BRASIL. Calendário de Vacinação. Ministério da Saúde. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/campanhas/vacinareproteger/index.html>>. Acesso em: 18 dez. 2017.

Já a vacinação em adultos vai depender de fatores como o pertencimento a um grupo de risco para determinada doença, local em que determinado grupo vive, ou indivíduos com imunidade reduzida, como idosos. No caso de uma viagem, por exemplo, seu destino pode determinar a necessidade de imunização contra uma determinada doença em específico.

## **Produção de soros**

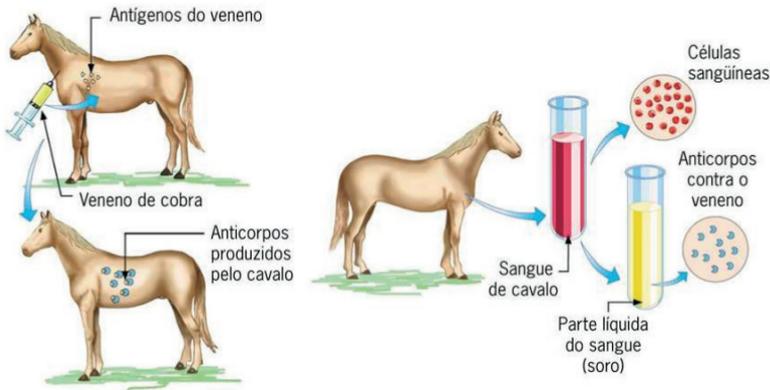
Os soros podem ser considerados medicamentos, ou antídotos, que contêm anticorpos produzidos por animais que foram imunizados. Um dos centros de pesquisas e referência é o Instituto Butantan, que conta com importantes linhas de estudos científicos voltados para a produção de soros específicos utilizados em todo o território nacional e também em algumas localidades internacionais. Além disso, é responsável por mais de 80% dos soros e vacinas utilizados hoje no Brasil.

A produção de soro geralmente é feita em cavalos e inicia-se com a imunização desses animais com antígenos específicos oriundos de venenos de serpentes, escorpiões, aranhas, toxinas de bactérias, vírus inativados, etc. Assim, o animal receptor passa a produzir anticorpos para aquele antígeno específico e, devido ao seu porte, gera um grande volume de sangue rico em imunoglobulinas.

Dessa maneira, não são produzidos apenas os chamados soros hiperimunes, mas também soros antitóxicos e soros antivirais. Assim, pós-sangria desses animais, o plasma obtido é submetido à diversos processamentos físico-químicos a fim de se obter as imunoglobulinas (anticorpos) purificadas e, de preferência, completamente livre de antígenos.



Figura 4.8 | Produção de soro antiofídico.



Fonte: <<http://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/patologia/HELIOJOSEMONTASSIER/aula-11--vacinas-e-soros-hiperimunes.pdf>>. Acesso em: 18 dez. 2017.

## Aplicação de soros

Ao contrário do que muitas pessoas pensam, a aplicação do soro não se restringe apenas à neutralização de efeitos tóxicos do veneno de animais peçonhentos como serpentes e aranhas. A imunização passiva pode ser utilizada quando há a deficiência de um certo anticorpo devido a um defeito congênito ou adquirido nos linfócitos B, ou seja, algum tipo de imunodeficiência.

Também pode ser aplicado quando uma pessoa imunodeprimida é exposta a uma doença que pode causar complicações em um determinado momento, como o caso de crianças passando por quimioterapia. A aplicação de soro também pode ser adequada quando um indivíduo é infectado por patógenos que podem ser neutralizados por anticorpos, como por exemplo tétano, botulismo, hepatite, raiva, etc.

Quadro 4.6 | Agentes comuns utilizados para imunização passiva

Doença	Agente
Picada de aranha viúva-negra	Antivenina de cavalo
Botulismo	Antitoxina de cavalo
Citomegalovírus	Anticorpo humano policlonal
Difteria	Antitoxina de cavalo
Hepatite A e B	<i>Pool</i> de gamaglobulina imune humana
Sarampo	<i>Pool</i> de gamaglobulina imune humana
Raiva	Anticorpo humano ou de cavalo policlona
Doença respiratória	Anticorpo monoclonal anti-RSV*
Picada de cobra	Antivenina de cavalo
Tétano	<i>Pool</i> de gamaglobulina imune humana ou antitoxina de cavalo
Vírus varicela zoster	Anticorpo humano policlonal
*Vírus sincicial respiratório.	

Fonte: Kindt, Goldsby e Osborne (2008, p. 510).

## Sem medo de errar

Vamos lembrar nossa situação-problema? Rafael, o pesquisador da área de produção de vacinas e soros, está participando de uma feira científica que recebe um público muito heterogêneo, incluindo alunos de graduação, pós-graduação, pesquisadores profissionais e também pessoas comuns da própria comunidade. O slogan da empresa de Rafael, claramente destacado na frente do seu stand, é “Nossa missão é salvar vidas”. De que forma Rafael pode demonstrar aos seus espectadores a importância da vacinação do quesito “salvar vidas”? Atraídos pela importância desse assunto, muitos estudantes abordaram o pesquisador em busca de informações sobre a empresa e sobre as linhas de pesquisas que ela contempla. Um estudante em específico tem muitas dúvidas sobre as etapas do processo de produção de soros. De que forma Rafael pode esclarecer essas etapas para o aluno?

Para demonstrar a importância vital das campanhas de vacinação ao redor do mundo, ele apresentou uma tabela que contempla dados sobre a eficácia da vacinação contra doenças comuns no mundo todo.

Quadro 4.7 | Eficácia da vacinação contra algumas doenças infecciosas comuns.

Doença	Número Máximo de Casos (ano)	Número de Casos em 2009	Alteração Percentual
Difteria	206.939 (1921)	0	-99,99
Sarampo	894.134 (1941)	61	-99,99
Caxumba	152.209 (1968)	982	-99,35
Coqueluche	265.269 (1934)	13.506	-94,72
Poliomielite (paralítica)	21.269 (1952)	0	-100,0
Rubéola	57.686 (1969)	4	-99,99
Tétano	1.560 (1923)	14	-99,10
<i>Haemophilus influenzae</i> tipo B	~ 20.000 (1984)	25	-99,88
Hepatite B	26.611 (1985)	3.020	-87,66

Esta tabela ilustra a notável diminuição na incidência de algumas doenças infecciosas para as quais foram desenvolvidas vacinas efetivas. Dados de Orenstein WA, AR Hinman, KJ Bart, and SC Hadler. Immunization. In Mandell GL, JE Bennett, and R Dolin (eds). Principles and Practices of Infectious Diseases, 4th ed. Churchill Livingstone, New York, 1985, e Morbidity and Mortality Weekly Report 58:1458-1469, 2010.

Fonte: Abbas, Lichtman e Pillai (2011, p. 2)

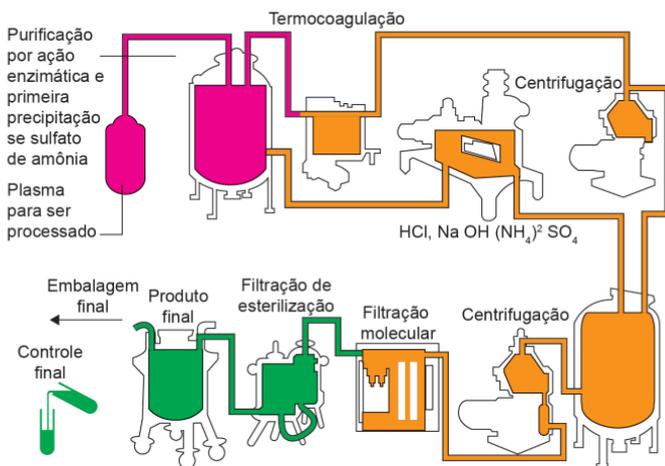
Dessa maneira, pôde ilustrar matematicamente como a vacinação vem reduzindo o número de casos de diferentes doenças ao longo dos anos e, conseqüentemente, poupando vidas. Rafael aproveitou para reforçar a importância da vacinação infantil, sugerindo que as pessoas acessassem o calendário brasileiro de vacinação disponível no site do Ministério da Saúde.

Com auxílio de um quadro, Rafael fez um miniseminário para expor aos interessados as principais etapas da produção de soros que sua empresa realiza. Utilizou como exemplo a produção de soros antipeçonhentos na qual a primeira etapa é a extração do veneno de animais como serpentes, aranhas, escorpiões, etc. Na sequência, esse material é liofilizado, diluído e, em doses adequadamente estipuladas, injetado em cavalos. Essa etapa é chamada de hiperimunização e pode levar até 40 dias. Após esse período, uma amostra de sangue é retirada a fim de se verificar o teor de anticorpos produzidos em resposta ao antígeno em questão. Estando no nível desejado, são retirados aproximadamente 15 litros de sangue (de

um animal com cerca de 500 kg) em três etapas, com intervalos de 48 horas entre elas. A partir do sangue, separa-se o plasma do qual é obtido o soro. Por meio de uma técnica desenvolvida pelo Instituto Butantan chamada de plasmaferese, a porção vermelha do sangue, ou seja, as hemácias, são devolvidas para o animal. Ao final do processo, o soro obtido passa por controle de qualidade que verifica a atividade biológica, a esterilidade, a inocuidade e a presença de pirogênios.

Ao final dessa aula, diversos alunos se interessaram em estagiar com nosso colega pesquisador Rafael.

Figura 4.9 | Processamento do plasma para obtenção de soro



Fonte: <[http://www.infobibos.com/artigos/2008\\_2/sorosvacinas/index.htm](http://www.infobibos.com/artigos/2008_2/sorosvacinas/index.htm)>. Acesso em: 18 dez. 2017.

## Avançando na prática

### Soro pra quê?

#### Descrição da situação-problema

Ana Luísa ficou muito empolgada com a feira de ciências de sua Universidade, principalmente após o papo com o pesquisador de soros e vacinas, Rafael. Como ainda está no primeiro ano, ela está considerando buscar um estágio na empresa de Rafael, pois ficou encantada com os aspectos da produção de soros. No entanto, um colega da aluna tentou desmotivar a garota, dizendo que é bobagem

estudar esse assunto, uma vez que moram num grande centro e que o número de acidentes com animais peçonhentos é ínfimo e que Ana Luísa vai se envolver num assunto “obsoleto”. O colega de Ana Luísa está correto? Quais outras aplicações dos soros?

### Resolução da situação-problema

Ana Luísa já havia se informado sobre o campo de atuação da empresa e, especialmente, sobre as linhas de pesquisa e desenvolvimento. Com seus conhecimentos, a aluna deu informações ao colega desmotivador. Ela começou listando os diferentes tipos de soros utilizados em acidentes com animais peçonhentos:

Quadro 4.8 | Principais soros

Soro	Para acidentes com
Antibotrópico	Jararaca, jararacuçu, urutu, caiçara, cotiara
Anticrotálico	Cascavel
Antilaquéutico	Surucucu
Antielaipídico	Coral
Antiaracnídico	Aranhas do gênero <i>Phoneutria</i> (armadeira), <i>Loxosceles</i> (aranha marrom) e escorpiões do gênero <i>Tityus</i> .
Antiescorpiônico	Escorpiões brasileiros do gênero <i>Tityus</i> .
Antilonomia	Taturanas do gênero <i>Lonomia</i> .

Fonte: CANTER et al. (2008)

Ana Luíza ainda completou citando soros que podem ser utilizados para o tratamento de infecções e na prevenção da rejeição de órgãos, que também são produzidos seguindo a mesma lógica dos soros anti-peçonhentos. A diferença, obviamente, está no tipo de substância inoculada no animal para induzir a produção de anticorpos. Entre esses outrossorosestão o antitetânico, antirrábico, antidiftérico, antibotulínico e antitimocitário.

## Faça valer a pena!

1. No campo da imunologia, tanto a produção e desenvolvimento de vacinas quanto de soros têm uma importância vital. Observe o quadro abaixo:

Vacina	Soro
I	A
II	B
II	C

De acordo com o quadro, selecione a alternativa correta que completa as características de cada uma dessas substâncias:

- a) I - Prevenção; II - Antígeno atenuado ou inativado; III - Imunização ativa; A - Tratamento; B - Anticorpos prontos; C - Imunização passiva.
  - b) I - Prevenção; II - Anticorpos prontos; III - Imunização ativa; A - Tratamento; B - Antígenos prontos; C - Imunização passiva.
  - c) I - Tratamento; II - Anticorpos prontos; III - Imunização ativa; A - Cura; B - Antígenos prontos; C - Imunização passiva.
  - d) I - Prevenção; II - Anticorpos prontos; III - Imunização passiva; A - Tratamento; B - Antígenos prontos; C - Imunização ativa.
  - e) I - Prevenção; II - Antígeno atenuado ou inativado; III - Imunização passiva; A - Tratamento; B - Anticorpos prontos; C - Imunização ativa.
2. As vacinas \_\_\_\_\_ são feitas com a utilização de agentes patogênicos que perderam sua capacidade de \_\_\_\_\_. Assim, mesmo sendo capazes de \_\_\_\_\_, apresentam \_\_\_\_\_. Entretanto, o princípio dessa imunização é a preservação da \_\_\_\_\_ desses patógenos que pode levar à indução de respostas imunológicas \_\_\_\_\_.

Selecione a alternativa que completa corretamente as lacunas do texto acima:

- a) ativas, causar doenças, se multiplicar, virulência atenuada, imunogenicidade, inatas e adaptativas.
- b) atenuadas, causar doenças, se multiplicar, virulência atenuada, imunogenicidade, inatas e adaptativas.
- c) atenuadas, se multiplicar, causar doenças, ter imunogenicidade, virulência atenuada, brandas.
- d) atenuadas, se multiplicar, causar doenças, virulência atenuada, imunogenicidade, brandas.
- e) ativas, causar doenças, se multiplicar, virulência atenuada, imunogenicidade, alérgicas.

**3.** Cada vez mais os avanços das pesquisas científicas vêm contribuindo para o desenvolvimento de novas vacinas. No entanto, o sucesso a imunização por meio das vacinas também depende de características inerentes do próprio agente patogênico.

Selecione a alternativa correta que apresenta os exemplos das características descritas no texto anterior:

- a) Velocidade de replicação, variação antigênica, interferência na resposta imune do hospedeiro.
- b) Estabelecimento de latência, estabilidade antigênica, interferência na resposta imune do hospedeiro.
- c) Estabelecimento de latência, variação antigênica, interferência na resposta imune do hospedeiro.
- d) Carga viral infectante, estabilidade antigênica, interferência na resposta imune do hospedeiro.
- e) Estabelecimento de latência, variação antigênica, interferência na resposta alérgica do hospedeiro.

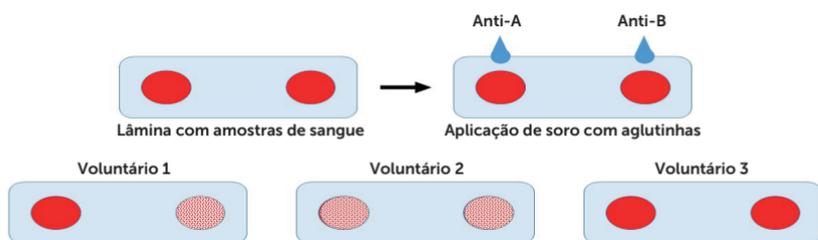
## Seção 4.3

### Imunodiagnóstico

#### Diálogo aberto

O biólogo Rafael está gostando cada vez mais do ambiente universitário pois pode unir o mundo acadêmico ao comercial, já que conecta as pesquisas em imunologia de uma grande universidade com o setor de pesquisa e desenvolvimento (P&D) da companhia em que trabalha. Por isso, ele decidiu participar de outra feira de ciências que, dessa vez, é aberta a toda a comunidade da cidade. Como trata-se de algo didático e de simples entendimento, Rafael decidiu expor em seu estande científico, o conceito de interação antígeno-anticorpo, relacionando-o à um método simples de detecção de antígenos. Assim ele pode explicar a imunologia por trás de um experimento simples: a tipagem sanguínea no sistema ABO. Para isso, com auxílio de alunos recém-formados em enfermagem pela mesma universidade, ele coletou três amostras de sangue de voluntários. Por meio da reação de hemaglutinação, ele obteve os seguintes resultados:

Figura 4.10 | Reação de hemaglutinação para tipagem sanguínea (sistema ABO)



Fonte: elaborado pela autora.

Qual o tipo sanguíneo (sistema ABO) de cada voluntário? Por que uma pessoa com tipo sanguíneo A só pode receber sangue tipo A ou O? Por que o sangue tipo O é considerado doador universal? Por que o sangue tipo AB é considerado receptor universal?

## Não pode faltar

Nessa última parte de nossa jornada, conheceremos a importância do imunodiagnóstico e como alguns dos conceitos em imunologia são utilizados na prática. Assim, com uma visão aplicada dos conceitos apreendidos até aqui, fecharemos nossa caminhada imunológica.

### Imunodiagnóstico

As técnicas de imunodiagnóstico compreendem os procedimentos realizados para avaliação de parâmetros imunológicos sejam eles para aplicação clínica, experimental ou industrial. Assim, os ensaios laboratoriais determinam condutas médicas importantes para diversas doenças, tanto pela identificação direta do antígeno, como pela detecção de anticorpos contra diversos agentes patológicos, como fungos, bactérias, vírus e outros parasitas. As avaliações imunológicas ainda podem ser usadas para a detecção de drogas, hormônios ou substâncias proibidas, tanto em pessoas, quanto em alimentos, colaborando para a segurança desses.

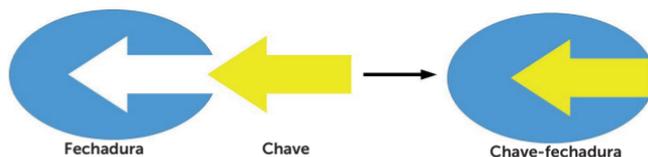
Para que seja considerada ideal, a técnica imunodiagnóstica utilizada deve ser de fácil execução, custo razoável e de resultado preciso. No entanto, em imunologia, o "barato" é algo raro, uma vez que os testes envolvem pesquisa e desenvolvimento custosos. Por isso, é preciso saber escolher o método de imunodiagnóstico adequado, conhecer bem seu princípio e, principalmente, saber interpretar os resultados de maneira correta.

Para que possamos apresentar algumas das técnicas utilizadas para a detecção de anticorpos e antígenos, é necessário que tenhamos em mente um conceito muito importante em imunologia que se baseia no conhecido sistema chave-fechadura.



#### Exemplificando

Figura 4.11 | Sistema chave-fechadura



Fonte: elaborado pela autora.

Em bioquímica, abordamos a interação enzima-substrato. O sistema que precisamos compreender bem em imunologia é a interação antígeno-anticorpo (Ag-Ac). Diferentemente de uma reação enzimática, a interação Ag-Ac é reversível, ou seja, não há modificações químicas irreversíveis nem no antígeno e tampouco no anticorpo.

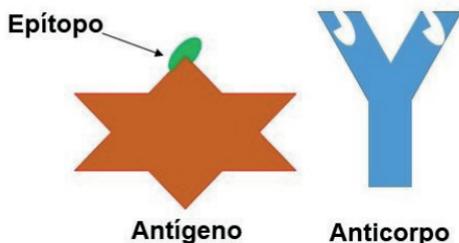
Assim, essa interação envolve diversas ligações não covalentes entre o determinante antigênico (epítipo) do antígeno e o domínio da região variável do anticorpo.



### Assimile

Lembre-se que o epítipo de um antígeno é a sua menor porção capaz de provocar uma resposta imune. É essa porção que se liga efetivamente à região variável do anticorpo ou à um receptor de superfície de um linfócito.

Figura 4.12 | Ilustração do epítipo de um antígeno e o domínio da região variável do anticorpo

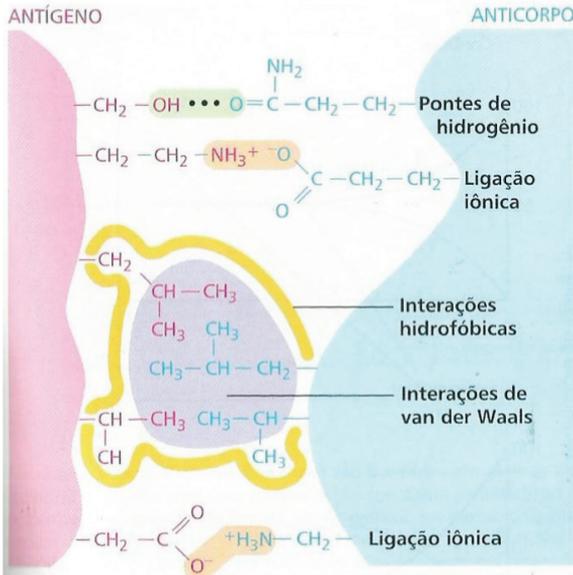


Fonte: elaborado pela autora.

As interações Ag-Ac podem apresentar diferentes níveis de afinidade. O que vai determinar essa afinidade é a força das interações não covalentes totais entre um único sítio de ligação do antígeno com o anticorpo e um único epítipo. Isso significa que anticorpos com baixa afinidade ligam-se fracamente ao antígeno e podem se desligar mais facilmente, enquanto os de alta afinidade permanecem ligados de forma mais forte e prolongada.

Quatro tipos de forças não covalentes determinam as interações Ag-Ac: pontes de hidrogênio, ligações iônicas entre os resíduos de cargas opostas, interações hidrofóbicas e interações de van der Waals.

Figura 4.13 | Forças da interação Ag-Ac



Fonte: Kindt, Goldsby e Osborne (2008, p. 173).

Existem diferentes tipos de metodologias aplicadas ao imunodiagnóstico, como técnicas de imunoprecipitação, imunoaglutinação, testes do sistema complemento, ensaio receptor-ligante, imunohistologia entre outros. E, de acordo com sua aplicação, esses métodos podem ser usados para detecção de anticorpos, detecção de antígenos, métodos de avaliação da imunidade celular, entre outros. A partir de agora, vamos conhecer alguns desses métodos e suas aplicações.

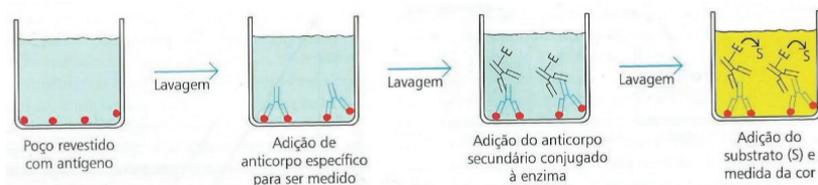
## Detecção de anticorpos

A avaliação de anticorpos em uma amostra pode ser apenas: qualitativa, quando o objetivo é apenas verificar a presença/ausência de um determinado anticorpo; ou quantitativa, quando mede a quantidade ou concentração do mesmo.

Uma das técnicas mais utilizadas para a detecção de anticorpos – e também para detecção de antígenos – é o Elisa ou EIA (Ensaio Imunoadsorvente Ligado à Enzima). Nesse método, uma enzima conjugada a um anticorpo, quando reage com um substrato incolor, gera um produto colorido quantificável. Uma das maiores

vantagens dessa técnica é sua facilidade de execução, segurança e baixo custo quando comparada a outros métodos imunológicos. De acordo com o tipo de Elisa, a técnica é utilizada para a detecção e quantificação de antígenos ou anticorpos. Os anticorpos podem ser avaliados pelo Elisa indireto, no qual a amostra contendo o anticorpo em investigação – chamado de anticorpo primário – é adicionada em um poço de microplaca contendo antígeno. Após um determinado tempo de reação, os poços são lavados para eliminação de anticorpos livres não ligados. Adiciona-se um anticorpo secundário conjugado à enzima, que se liga ao anticorpo primário e, após lavagem da placa, é adicionado o substrato para a reação enzimática. Por fim, a quantidade de produto colorido formada é medida em equipamento de leitura de placas por espectrofotometria. As absorbâncias informadas pelo equipamento são comparadas à uma curva padrão a partir da qual calcula-se a concentração de anticorpos da amostra.

Figura 4.14 | Elisa indireto



Fonte: Modificado de Kindt, Goldsby e Osborne (2008, p. 184).

Quando um anticorpo e um antígeno particulado reagem, ocorre a formação de pequenos agregados aglutinados. Esse é o princípio das reações de aglutinação nas quais os anticorpos são chamados de aglutininas. Esse tipo de técnica pode ser utilizado para a detecção de infecções bacterianas que provocam a produção de anticorpos séricos específicos para certos antígenos de superfície desses microrganismos. Nesse caso, o soro de pacientes com suspeita de estarem infectados com uma bactéria em específico é diluído em tubos de forma seriada. A seguir, são adicionadas bactérias e o último tubo que apresentar aglutinação visível indica o título do anticorpo sérico do indivíduo, ou seja, representa a maior diluição sérica capaz de provocar uma aglutinação positiva.



## Exemplificando

Tomemos como exemplo uma amostra de soro diluída em série. Quando a diluição de 1/320 mostrar alguma aglutinação, mas a diluição de 1/640 não mostrar o mesmo efeito, isso significa que o título de aglutinação do soro do paciente é de 320.

## Detecção de antígenos

Uma das características mais importantes com relação à interação Ag-Ac é a especificidade dessa ligação. É graças a ela que os anticorpos, produzidos praticamente contra qualquer tipo de macromolécula, podem ser valiosos reagentes para a detecção, purificação e quantificação de antígenos. Com os avanços da biologia molecular e das pesquisas em imunologia, os métodos de produção de anticorpos monoclonais têm permitido a produção de uma enorme gama dessas moléculas, com especificidade para diversas substâncias. Portanto, para que nosso conhecimento em imunologia se enriqueça ainda mais, vamos estudar alguns dos métodos mais usados para a detecção de antígenos.



## Pesquise mais

Para se aprofundar mais sobre anticorpos monoclonais, estude o capítulo 5 em ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

Nos métodos que utilizam quantificação imunoquímica, é necessário que o antígeno puro (ou anticorpo) possa ser medido por uma molécula indicadora, também chamada de marcador. De modo geral, essas técnicas apresentam ótima sensibilidade e especificidade, e são amplamente utilizadas tanto para pesquisas como para fins clínicos.

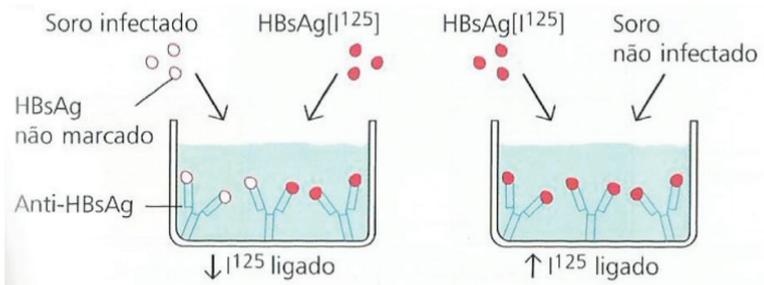
Um dos métodos mais sensíveis para a detecção de antígenos (ou anticorpos) é o radioimunoensaio (RIA), no qual o antígeno é marcado com um radioisótopo que emite raios gama, como o  $^{125}\text{I}$  (Iodo 125), ou que emite raios beta, como o  $^3\text{H}$  (Hidrogênio 3).

Assim, a radioatividade pode ser quantificada por equipamentos que detectam eventos de decomposição radioativa. O princípio dessa técnica está na ligação competitiva de um antígeno radiomarcado e um antígeno não marcado com um anticorpo de alta afinidade. A técnica segue basicamente os seguintes passos:

- Mistura-se o antígeno marcado com o anticorpo em uma concentração capaz de saturar os sítios de ligação do anticorpo;
- Concentrações crescentes de amostras teste (com o antígeno não marcado de concentração desconhecida) são adicionadas;
- Com os dois tipos de antígenos competindo pelo sítio de ligação do anticorpo, quanto maior for a concentração do antígeno de alta afinidade não marcado – o qual está em investigação – menor a quantidade de antígeno marcado.

Assim, o decréscimo na quantidade de antígeno radiomarcado será proporcional à quantidade de antígeno não marcado adicionada.

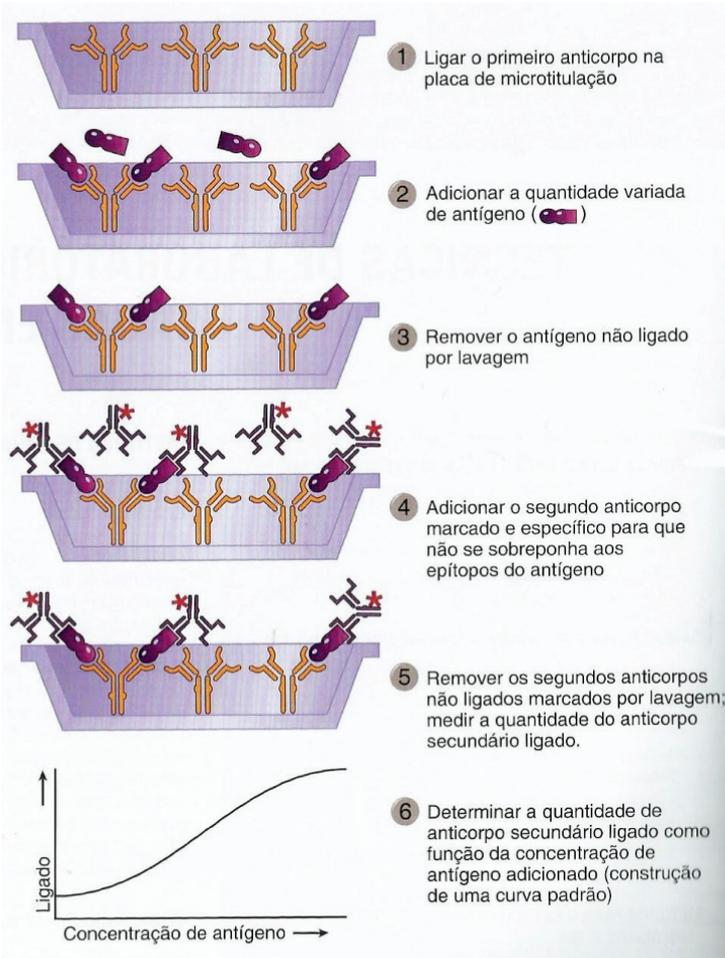
Figura 4.15 | Exemplo de radioimunoensaio de fase sólida para detecção do vírus da hepatite B em amostra de sangue



Fonte: Kindt, Goldsby e Osborne (2008, p. 183).

Assim como na detecção de anticorpos, o Elisa também pode ser utilizado para a detecção de antígenos. Nesse caso, utiliza-se o Elisa sanduíche, no qual, ao invés do antígeno, a microplaca é revestida com anticorpos específicos para o antígeno em estudo. Assim, a amostra é adicionada e os antígenos se ligam aos anticorpos. Da mesma forma como descrito para o Elisa indireto, seguem-se as etapas de lavagem, adição do anticorpo secundário, aplicação do substrato e geração de produto colorido e sua quantificação.

Figura 4.16 | Elisa sanduíche



Fonte: Abbas, Lichtman e Pillai (2011, p. 514)

Assim como para o estudo de anticorpos, reações de aglutinação também são usadas na detecção de antígenos. Um exemplo bastante conhecido desse tipo de técnica é a hemaglutinação que é utilizada na tipagem sanguínea. Sendo um dos imunoenaios mais utilizados no mundo todo, na tipagem dos antígenos ABO encontrados na superfície das hemácias – chamados de aglutinogênio –, a amostra de sangue em investigação é misturada a uma solução contendo os anticorpos do grupo sanguíneo A ou B encontrados no plasma sanguíneo – denominados de aglutininas.

Assim, numa lâmina contendo duas gotas de sangue em cada extremidade, acrescenta-se soro contendo aglutinina anti-A em uma gota e soro com aglutinina anti-B na outra porção de sangue. Dessa forma, a ocorrência aglutinação indica a presença ou ausência do respectivo aglutinogênio e, conseqüentemente, o tipo sanguíneo.

Quadro 4.9 | Tabela com o grupo sanguíneo e seus respectivos aglutinogênios e aglutininas

Grupo sanguíneo	Aglutinogênio (membrana dos eritrócitos)	Aglutinina (plasma)
A	Aglutinogênio A	Anti-B
B	Aglutinogênio B	Anti-A
AB	Aglutinogênios AB	Não possui
O	Não possui	Anti-A e anti-B

Fonte: elaborado pela autora.

## Métodos de avaliação da imunidade celular

Em seções passadas, nós estudamos os diferentes tipos de resposta imunológica, dentre elas a resposta imune celular. Nessa reação imune, os linfócitos T auxiliares CD4 são ativados, proliferam-se e se diferenciam em células efetoras que irão secretar diferentes citocinas com diferentes funções. Além dessas células, os linfócitos CD8 também são ativados, proliferam e se diferenciam em linfócitos citotóxicos (CTL) que destruirão células que contém patógenos em seu interior como vírus e bactérias, eliminando os reservatórios da infecção. Dessa maneira, a avaliação da imunidade celular analisa a resposta celular do sistema imunológico. Uma das indicações para esse teste é quando o paciente apresenta infecção de repetição. Nesse caso, por apresentar diversas vezes uma determinada doença – principalmente de origem fúngicas ou bacteriana – é necessário avaliar uma possível deficiência nesse tipo de resposta.

Um dos métodos mais utilizados nesse tipo de investigação imunológica é o teste cutâneo em que são utilizadas formulações de extratos antigênicos originados de microrganismos que são aplicados intradermicamente no paciente. As substâncias utilizadas podem ser estreptoquinase, candidina, tricoftina, histoplasmina, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, etc. Após um tempo determinado – geralmente 48 horas – é feita a leitura do teste. O resultado positivo

para esse teste, ou seja, a ocorrência de uma reação imunológica indica que a resposta imune celular (atividade dos linfócitos T) está íntegra. Além disso, pode indicar que o indivíduo teve contato com o agente patogênico em questão, foi vacinado contra ele ou que está infectado. Por sua vez, um teste negativo, num cenário de infecções recorrentes pelo mesmo agente, pode indicar uma deficiência ou diminuição da imunidade celular.



### Assimile

Você pode entender melhor alguns dos testes de imunidade celular acessando o material abaixo:

HERMES PARDINI. Manual de exames. 2013. Disponível em: <[https://www3.hermespardini.com.br/mobile/download/ManualDeExames2013\\_HermesPardini.pdf](https://www3.hermespardini.com.br/mobile/download/ManualDeExames2013_HermesPardini.pdf)>. Acesso em 11 de abril de 2018.



### Pesquise mais

Além dos métodos para imunodiagnóstico apresentados, existem uma variedade de outras técnicas utilizadas, como citometria de fluxo, Elisa competitivo, quimioluminescência, Western blotting, imunoprecipitação, imunofluorescência, microscopia imunoeletrônica, imunoelektroforese, imunohistoquímica, ressonância de plasma de superfície, cromatografia de afinidade, entre outros. Para saber mais sobre essas técnicas estude o capítulo 6 em KINDT, T. J.; GOLDSBY, R. A.; OSBORNE, B. A. **Imunologia de Kuby**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008, e o apêndice IV em ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

## Sem medo de errar

As pessoas adoraram a demonstração de Rafael e estão ansiosas pelos resultados da tipagem sanguínea realizada pelo nosso colega biólogo. Conforme indicado pela reação de hemaglutinação, os resultados foram:

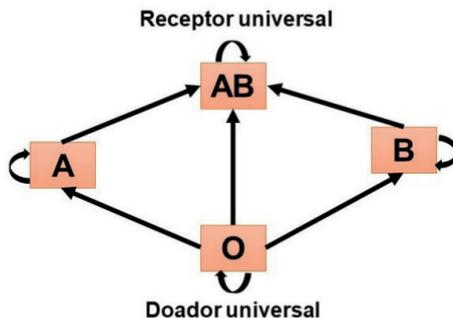
- Voluntário 1 tem sangue tipo B: com a adição do soro anti-B, ou seja, que continha o anticorpo (aglutinina) para o antígeno B (aglutinogênio B) presente na superfície das hemácias, houve interação antígeno-anticorpo, causando aglutinação.

Como não há aglutinogênio do tipo A na amostra, a aglutinina anti-A não se ligou à nenhuma proteína e, logicamente, não houve reação de hemaglutinação.

- Voluntário 2 tem sangue tipo AB: seguindo o mesmo princípio, a amostra de sangue do segundo voluntário apresenta os dois tipos de aglutinogênios (A e B) e, por essa razão, houve hemaglutinação em resposta a adição de ambas aglutininas (anti-A e anti-B).
- Voluntário 3 tem sangue tipo O: essa amostra de sangue não apresenta aglutinogênios, ou seja, as aglutininas adicionadas não reagiram com nenhum antígeno, nem tipo A e tampouco tipo B. Na verdade, o sangue tipo "o" é na verdade sangue tipo "zero", pois não apresenta nenhum aglutinogênio.

Após a demonstração prática e explicação dos resultados para o curioso público, Rafael completou sua exposição falando sobre a importância da doação de sangue e sobre alguns conceitos dentro do assunto do sistema ABO. Ele explicou que pessoas com tipo sanguíneo A, por exemplo, só pode receber sangue do tipo A ou O. Isso porque, caso recebesse sangue contendo aglutinogênio B (sangue tipo B ou AB), seu corpo "enxergaria" esse antígeno como não próprio. Nesse caso, por possuir naturalmente a aglutinina A (anticorpos contra aglutinogênio A), a pessoa desenvolveria uma reação de incompatibilidade sanguínea, isto é, ocorreria a destruição das hemácias recebidas com consequências como queda de pressão arterial, coagulação intravascular, insuficiência renal e até mesmo morte do paciente. Nesse sentido, pessoas com tipo sanguíneo A, além de receber sangue tipo A, podem também receber sangue do tipo O, que não apresenta nenhum tipo de aglutinogênio. É também por essa mesma razão que o sangue tipo O é considerado doador universal, ou seja, por não possuir nenhum tipo de aglutinogênio, ele não possui antígenos passíveis de serem reconhecidos pelas aglutininas A ou B, e pode ser recebido pelos tipos sanguíneos A, B, AB ou O. Seguindo o mesmo raciocínio, pessoas com sangue do tipo AB podem receber qualquer tipo de sangue, uma vez que já apresenta os dois tipos de aglutinogênios e nenhum tipo de aglutinina.

Figura 4.17 | Sistema ABO



Fonte: elaborado pela autora.

## Avançando na prática

### Escolhendo um método para imunodiagnóstico

#### Descrição da situação-problema

Henrique é o novo aluno do laboratório do biólogo Rafael e está muito interessado em aprender técnicas de imunodiagnóstico. Como Henrique é novato e ainda não está tão familiarizado com a rotina de laboratório, Rafael sugeriu que ele comece seu aprendizado com uma técnica mais fácil, barata e segura, a fim de que ele entenda os princípios envolvidos e saiba como interpretar os dados obtidos. Qual método de detecção de anticorpos se enquadra nessas especificações? Esse método pode ser utilizado para a análise de antígenos? Vamos ajudar Rafael a orientar o novo estagiário?

#### Resolução da situação-problema

O Elisa ou EIA (Ensaio Imunoabsorvente Ligado à Enzima) é uma das técnicas mais utilizadas para a detecção de anticorpos e também de antígenos, isso porque apresenta como características a facilidade de execução, a segurança e o baixo custo quando comparada a outros métodos imunológicos. A técnica varia um pouco de acordo com o analito, ou seja, se estamos avaliando

anticorpos ou antígenos. O Elisa indireto é utilizado para detecção e quantificação de anticorpos de modo que, à amostra em análise é aplicada uma microplaca a qual está impregnada de antígenos específicos para o anticorpo em estudo. Após um determinado tempo de incubação, a microplaca tem os seus poços lavados para eliminação dos anticorpos que não ficaram aderidos aos antígenos. Os anticorpos em análise são chamados de anticorpos primários. Então, são adicionados os anticorpos secundários conjugados à enzima. Esses anticorpos, por sua vez, se ligam especificamente aos anticorpos primários. Após lavagem para retirar os anticorpos secundários que não se ligaram, é adicionado um substrato para a enzima conjugada que ao reagirem, leva a formação de um produto colorido que é quantificado através de leitura em espectrofotômetro e comparação à uma curva padrão.

Já na detecção de anticorpos é utilizado o Elisa sanduíche. Essa técnica leva esse nome, pois a microplaca é impregnada com anticorpos primários que se ligarão ao antígeno em investigação e esse, por sua vez, se ligará aos anticorpos secundários conjugados à enzima posteriormente adicionados. Ou seja, haverá a formação de um sanduíche de antígeno, no qual os “pães” são os anticorpos primário e secundário. Portanto, a base desse método é a reação de uma enzima conjugada a um anticorpo que reage com um substrato incolor formando um produto colorido quantificável.

Com a orientação de Rafael, Henrique pôde aprender muito bem a técnica e já está pronto para novos desafios e vê a hora de iniciar seu projeto de iniciação científica.

## Faça valer a pena

**1.** As forças que participam da interação antígeno-anticorpo são:

- I- ligações covalentes
- II- ligações não covalentes
- III- interações hidrofóbicas
- IV- pontes de hidrogênio
- V- ligações iônicas
- VI- forças de van der Waals

Qual das alternativas abaixo contém as ligações que participam da interação antígeno-anticorpo?

- a) I, II, IV, V e VI.
- b) II, III, IV e V.
- c) II, III, IV, V e VI.
- d) III, IV e VI.
- e) I, III, IV, V e VI.

**2.** A \_\_\_\_\_ ocorre quando um \_\_\_\_\_ e um \_\_\_\_\_ reagem formando \_\_\_\_\_. Nesse tipo de reação os anticorpos são chamados de \_\_\_\_\_.

Selecione a alternativa que contém as palavras que completam corretamente a sentença acima.

- a) reação de precipitação, antígeno, anticorpo particulado, pequenos agregados aglutinados, aglutinogênio.
- b) reação de aglutinação, anticorpo, antígeno particulado, pequenos agregados aglutinados, aglutininas.
- c) reação de precipitação, anticorpo, antígeno particulado, pequenos precipitados, aglutinogênio.
- d) reação de imunofluorescência, anticorpo, antígeno particulado, uma solução colorida, aglutinogênio.
- e) reação enzimática, anticorpo, antígeno particulado, uma solução colorida, aglutininas.

**3.** Tanto a detecção de antígenos como a de anticorpos pode ser qualitativa ou quantitativa, dependendo do método imunodiagnóstico empregado. Uma das técnicas mais amplamente empregadas é o Elisa ou EIA (Ensaio Imunoabsorvente Ligado à Enzima).

Qual alternativa melhor descreve esse método imunodiagnóstico?

- a) Uma enzima conjugada à um anticorpo, quando reage com um substrato incolor, gera um produto colorido quantificável.
- b) Um anticorpo e um antígeno particulado reagem formando pequenos agregados aglutinados.
- c) O antígeno puro (ou anticorpo) é medido através de uma molécula indicadora, também chamada de marcador.
- d) O antígeno é marcado com um radioisótopo que emite raios gama.
- e) O antígeno marcado é misturado com o anticorpo em uma concentração capaz de saturar os sítios de ligação do anticorpo.

# Referências

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

CANTER, H.M.C.; Perez Junior, J.A., HIGASHI, H.G., GUIDOLIN, R.R. Soros e vacinas. 2008. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2008\\_2/SorosVacinas/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2008_2/SorosVacinas/index.htm)>. Acesso em: 18 dez. 2017.

FERREIRA, A. W.; ÁVILA, S.L.M. **Diagnóstico Laboratorial**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1996.

Instituto Butantan. Disponível em: <http://www.butantan.gov.br/producao/soros/Paginas/default.aspx>. Acesso em: 18 dez. 2017.

JANEWAY, C. A. et al. **Imunobiologia**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

KINDT, T. J.; GOLDSBY, R. A.; OSBORNE, B. A. **Imunologia de Kuby**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.









ISBN 978-85-522-0568-5



9 788552 205685 >