

Profa Sônia.

Família: Enterobacteriaceae

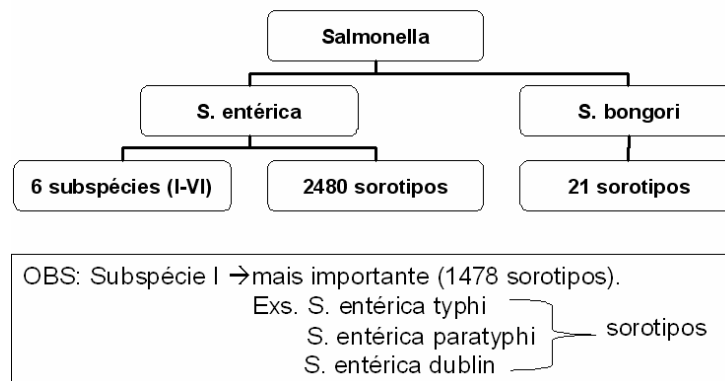
Gêneros: Salmonella e Yersinia

Salmonella e Yersinia são gêneros patogênicos da família Enterobacteriaceae. O gênero Salmonella é o mais importante e predomina nos casos de infecção comparativamente à Yersinia. Entretanto, em alguns países a Yersinia pode causar inúmeros processos infecciosos.

Salmonella

O gênero vem sofrendo mudanças constantes na taxonomia. A última modificação passou a classificar as antigas espécies como sorotipos. Esta classificação mais atual, baseada em estudos de homologia de DNA, verificou que existem apenas duas espécies de Salmonella.

- 2 espécies:
 - Salmonella entérica:
 - Com 2480 sorotipos.
 - Dividida em seis subespécies (I-VI): a subespécie I possui 1478 sorotipos de acordo com características bioquímicas, tipos de hospedeiros, etc. A subespécie I é mais importante porque engloba a maioria dos sorotipos e porque tem animais de sangue quente como hospedeiro. As outras subespécies são encontradas em animais de sangue quente e frio e são menos comuns nas causas de infecções.
 - Salmonella bongori:
 - Com 21 sorotipos.
 - Não apresenta nenhum destaque clínico.



Sorotipos de Salmonella entérica pertencentes à Subespécie I

Classificação como sorotipos:

- Antígeno O: trata-se do antígeno somático e corresponde à parte mais externa do LPS dos gram-negativos. Os glicídios que compõe esse LPS são variáveis de um sorotipo para outro.
- Antígeno K: corresponde à cápsula. Esse antígeno capsular não é muito freqüente: poucas espécies o portam. Entretanto, a presença dele é importante visto que é encontrado em 3 sorotipos causadores de doenças graves: S. dublin, S. tiphy e S. paratiphy. Esse antígeno capsular tem sido conhecido como Vi (virulência) uma vez que tem sido encontrado nas amostras mais virulentas.
- Antígeno H: corresponde ao flagelo. As salmonelas apresentam uma complicação quanto à determinação do antígeno flagelar porque um mesmo sorotipo não expressa determinado antígeno com uma constância. Assim, há uma variação de fase: existem dois antígenos (H1 e H2) no mesmo sorotipo e estes podem estar presentes um a um ou ao mesmo tempo.

- A maioria das salmonelas é flagelada, entretanto existem espécies imóveis.
- Os sorotipos são classificados de acordo com os Antígenos O e H.
- Laboratórios clínicos só tipam o antígeno O (o antígeno somático que corresponde ao polissacarídeo O do LPS). Mas, como visto, o sorotipo é determinado pelos Ag O e H.

Sorotipos adaptados a hospedeiros específicos

- *S. typhi* e *S. paratyphi* → altamente adaptados ao homem e não infectam animais.
- Sorotipos que infectam animais também podem infectar o homem por meio de material fecal (principalmente), pelo contato direto de mãos que podem contaminar os alimentos ou o animal pode ser a fonte de alimentação/infecção (ex. leite).
- *S. Pullorum* → adaptado a Aves.
- *S. Dublin* → adaptado a Gado.
- *S. Choleraesuis* → adaptado a Suínos.
- Como visto, a maioria dos sorotipos causa infecção em animais, mas muitos infectam também o homem.
- Como também foi observado, a maior parte das infecções é causada por sorotipos que parasitam animais de sangue quente e que pertencem à subespécie I. Entretanto, podemos adquirir infecções a partir de sorotipos que parasitam animais de sangue frio.

Fatores de Virulência

- **Adesinas:** fazem ligação específica com o alvo na célula humana.
 - Fímbrias diversas (tipo I, agregativa, tipo IV, etc).
 - Proteínas de superfície (codificadas por genes cromossomiais): ligam-se à fibronectina. De outro modo, a fibronectina em tecidos humanos é o receptor para esse tipo de proteína.
- **Antígeno Vi** (antígeno capsular encontrado em sorotipos de *S. entérica* como *S. typhi*, *S. paratyphi* e *S. Dublin*): impede a fagocitose.
- **Flagelina** (dentro célula epitelial – IL-8): o próprio antígeno flagelar foi reconhecido em alguns sorotipos como um fator de virulência. Essa flagelina seria internalizada no citosol da célula hospedeira e lá induziria a produção de IL-8, importante fator para inflamação.
- **Ag O (LPS):** resiste Sistema Complemento (MAC). De outro modo, esse Ag O é um fator de resistência ao complemento, pois impede a formação do MAC.
- **Proteína de membrana externa** (interfere com MAC): interfere também com a ação do MAC.
- **Genes de resistência** à acidez e pH lisossomal: são mais freqüentemente encontrados nos sorotipos que causam infecções disseminadas. Esses sorotipos saem do intestino e dirigem-se para outros sítios. São genes que codificam resistência à acidez intracelular de fagócitos, à acidez do suco gástrico, etc.
- **Superóxido dismutase** (gene bacteriófago): impedem a destruição intracelular pelos radicais livres.
- **Invasinas** (invasão – sistema de secreção tipo III)
- Genes plasmidiais (*inv/spa*) e cromossômicos codificam **invasinas** que facilitam a invasão da célula hospedeira. São proteínas que fazem parte do sistema de secreção do tipo III.
- **Ilhas de patogenicidade:** em geral, o genoma das salmonelas apresenta tipos diferentes de ilhas de patogenicidade.
- **Proteínas do sistema de secreção tipo III:** essas proteínas facilitam a invasão da bactéria dentro das células. Na célula epitelial a invasão é facilitada porque proteínas de membrana externa participam juntamente com proteínas do sistema de secreção tipo III que migram para a célula epitelial e alteram o citoesqueleto da célula hospedeira.

As salmonelas são mais freqüentemente encontradas no Íleo Terminal e I. Grosso.

Infectam mais facilmente a célula M, entretanto podem infectar outros tipos celulares.

A bactéria adere ao epitélio e penetra na célula pelo sistema de secreção. A seguir ela é envolvida por uma vesícula fagocítica e, dentro dessa vesícula, multiplica-se.

A vesícula cheia de bactérias não se rompe, como acontece na infecção por *Shigella*, e pode passar para a lâmina própria ou de uma célula para outra. Por fim, acaba levando a um processo lesivo que culmina com a morte da célula.

Sabe-se que a bactéria antes de se internalizar numa vesícula pode também ir rapidamente para a célula vizinha ou para a lâmina própria.

Uma vez atingindo a lâmina própria, o destino das bactérias é determinado pela virulência das cepas:

- algumas ativam o sistema de fagocitose e são eliminadas;
- algumas são fagocitadas e não morrem dentro do fagócito: correspondem aos sorotipos que possuem as ditas proteínas que resistem ao pH ácido, sistemas que impedem a fusão de fagossoma com lisossoma e superóxido dismutase. Essas bactérias podem aumentar em número dentro dos macrófagos e alcançar o

sistema linfático e circulatório por meio desse processo. Podem causar infecções focais, febre entérica e bacteremia.

Indução do ruffling pela Salmonella

Como exposto, o sistema de secreção tipo III funciona a favor da internalização da bactéria. Ele possui vários tipos de proteínas (12 ao que parece) que participam em várias etapas da invasão. Esse sistema é produzido pela bactéria e permite às proteínas atravessar a membrana da célula epitelial, e uma vez dentro dessas células hospedeiras, as proteínas alteram seus citoesqueletos. Estas proteínas agem sobre fosfolipases, tirosinas quinases e durante esse desarranjo do citoesqueleto a célula emite evaginações de membrana que envolvem a Salmonella. Posteriormente à essa alteração morfológica com formação de pseudópodes, a Salmonella entra dentro da célula.

Esse fenômeno possui duração de alguns minutos a uma hora. Decorrido esse período, o citoesqueleto se reorganiza novamente.

Existem cepas que vão para a lâmina própria e de acordo com o sorotipo e com os mecanismos de defesa podem ser eliminadas. Entretanto, se for um sorotipo virulento ou se o hospedeiro estiver imunodeficiente a bactéria pode alcançar a circulação.

Transmissão da Salmonella

- Mãos contaminadas com fezes de animais e do homem.
- Ingestão de alimentos contaminados com fezes: carnes, leite, ovos (mal cozidos ou crus). Os ovos contaminam-se durante a postura quando são infectados pelas fezes das aves. Se houver rachaduras na casca de ovo há aumento da possibilidade de contaminação. Não é bom lavar o ovo porque facilita a entrada do microrganismo. O que é mais correto é colocar um desinfetante (ex. água sanitária). Sabe-se hoje que existe a transmissão transovariana: a ave contamina a gema do ovo. Desse modo, o mais indicado é cozinhar bem os ovos, legumes e verduras (locais onde os animais defecam e que podem ser contaminados).
- Existe uma facilidade para transmissão.
- Dose infectante ou infecciosa: as salmonelas e o vibrião colérico possuem doses infecciosas elevadas (10 a 8 ou 10 a 9 bactérias para alcançar o intestino e causar a doença). Muitas bactérias morrem ao passar pelo suco gástrico e outras, quando ingeridas com alimentos, são protegidas pelo bolo alimentar. A dose elevada permite que sobreviva um número suficiente para causar infecção. A Shigella precisa de uma dose muito baixa porque produz uma proteína que a protege do suco gástrico (dose = 10 a 2).
- A Salmonella não produz toxinas e por isso não é muito correto utilizar a expressão Food Poisoning (envenenamento alimentar).

Formas clínicas da salmonelose

- **Gastrenterite:** acompanhada de uma diarreia de moderada a fulminante, febre baixa, náusea e vômito. Pode levar a uma desidratação rápida dependendo do sorotipo e da condição do hospedeiro. São sorotipos frequentemente limitados ao intestino. Entretanto, dependendo do sorotipo e do grau de virulência, alguns podem alcançar os nódulos linfáticos e a corrente sanguínea. Ocorre até mesmo nos países desenvolvidos e geralmente não é tratada uma vez que é autolimitante. Pode haver presença de muco e sangue nas fezes.
- **Bacteremia (septicemia):** sem sintomas gastrintestinais importantes e acompanhada de febre.
- **Febre entérica:** os bacilos tifóide e paratifóide são os principais agentes. A bactéria penetra no organismo, alcança o intestino e, inicialmente, não causa diarreia. Na realidade, a princípio, pode gerar uma constipação. A seguir, dirige-se para os linfonodos mesentéricos e posteriormente para a corrente sanguínea. Todavia, alguns sorotipos são tão virulentos ou o hospedeiro encontra-se tão frágil que permite que a bactéria alcance diretamente a corrente sanguínea. Duas semanas após a infecção retorna para o intestino e pode ser letal.

São manifestações da febre entérica: febre prolongada, bacteremia contínua, envolvimento do Sistema Fagocitário Mononuclear (linfonodos mesentéricos, fígado e baço) e diarreia.

- **Estado de carreador após infecção prévia (1-5%):** assintomático, mas com infecção anterior. O indivíduo não está doente, mas continua eliminando salmonelas pelas fezes. Nesse carreador assintomático são mais freqüentes os sorotipos de febre entérica (*S. typhi* e *S. para typhi*), numa percentagem variável. A bactéria sobrevive especialmente bem na vesícula biliar e, desse modo, é mais dificilmente eliminada se houver cálculos biliares. Esse carreador é uma fonte de infecção para outras pessoas, principalmente se manuseia alimentos.

Diagnóstico laboratorial de Salmonella

- **Cultura e identificação**
 - Local da infecção
 - Secreções (fezes e outras) e sangue.
 - Meios seletivos (se for a partir do intestino) e Agar sangue (se for não for do intestino).
 - Provas bioquímicas.
 - Sorotipagem (sorotipos).
 - Hemocultura (infecções sistêmicas).
- **Provas sorológicas** (para febre tifóide, paratífóide e portador/carreador): utiliza a reação de Widal que pesquisa anticorpos no soro do paciente. Na realidade, a reação de Widal era utilizada, mas vem sendo substituída por outras técnicas que indicam a presença de anticorpos já formados no sangue do paciente. As provas devem ser feitas a partir da terceira semana de infecção quando os anticorpos começam a surgir.
- **Testes moleculares:** existem sondas de DNA para alguns tipos de salmonella.
- **Eletroforese em campo pulsado (PFGE):** um teste molecular também importante
- Os laboratórios clínicos utilizam a cultura e identificam a aglutinação com anticorpos específicos.

Diagnóstico

1. Identificação bioquímica: lactose positiva e Mckoney.
 2. Soroaglutinação.
 3. Sonda.
- Cultura em meios seletivos que permitem a produção de ácido sulfídrico.
 - Identificação bioquímica da enterobactéria: citrato positivo.
 - A *S. typhi* é citrato negativo e produz pouco gás sulfídrico.

Outros testes diagnósticos

Sorologia

- **Salmonella**
 - Antisoros "O" polivalentes, Grupos A-E (Kauffman-White).
 - Antisoros "H": fase 1 e fase 2 (em tubos).
 - Febre tifóide e portadores: Acs no soro do paciente (reação de Widal).
- **Yersinia:** anti-soros "O" (em lâmina).

Tratamento

- **Gastrenterite:** não são tratadas com antibióticos.
- **Infecções sistêmicas e febres entéricas:** cefalosporinas de terceira geração e fluorquinolonas. Entretanto, existem cepas de *S. typhi*, por exemplo, que são resistentes.

Controle

- Cuidado no preparo e conservação dos alimentos.
- Medidas higiênicas.
- Prevenção de febre entérica: medidas de saúde pública, tratamento de carreadores e vacinação.
- Vacinação para febre tifóide:
 - Ty21 vacina viva atenuada (oral): inadequada para crianças menores de 2 anos.
 - Polissacarídeo capsular Vi conjugado com exotoxina A encontrada em *Pseudomonas aeruginosa*: proteção para crianças de 1 a 5 anos.

Yersinia

- 3 espécies são patogênicas para o homem: 2 causam doenças intestinais e uma causa a peste negra/bulbônica.
- Causam infecções intestinais → *Y. enterocolitica* e *Y. pseudotuberculosis*.
- Causa peste bulbônica (pneumocócica e peste septicêmica) → *Y. pestis*.
- Yersiniose: zoonose.
- *Y. enterocolitica*: possui destaque devido à alta incidência em países de clima frio (Canadá e nórdicos). Em certos locais é uma causa importante de doença de origem alimentar.
- O homem é infectado pela *Y. enterocolitica* e pela *Y. pseudotuberculosis* por meio de alimentos de origem animal contaminados.
- **Reservatórios:**
 - *Y. enterocolitica*: porcos, roedores, coelhos.
 - *Y. pseudotuberculosis*: roedores, animais selvagens, aves de caça.
 - Contaminação através da ingestão de água e alimentos contaminados.
- *Y. pestis*: causa 2 tipos de pestes.
 - Peste urbana: roedores (?).
 - Peste silvestre: roedores (?).
 - A peste ocorria entre animais e era transmitida entre eles. Quando alcançou roedores urbanos passou a causar processos epidêmicos nas pessoas. A pulga do rato é o vetor para o ser humano: ela transmite entre os ratos e também do rato para o ser humano.
- ***Y. pestis***: antigênicamente homogênea. Só existe um sorotipo.
- ***Y. pseudotuberculosis***: 6 sorotipos (I-VI de acordo com O). 80% das em infecções humanas é pelo sorotipo O:1.
- ***Y. enterocolitica***: 5 biotipos e 50 sorotipos.
- Por causa da homologia, acredita-se que a *Y. pseudotuberculosis* é um ancestral da *Y. pestis*.
- Cepas patogênicas predominantes em seres humanos → O:3, O:8, O:9 e O:5,27. Isso varia de acordo com as áreas geográficas: alguns sorotipos predominam em algumas regiões e outros não. Por exemplo, no Brasil não se encontraram O:8 e O:9.
- A *Y. pestis* é transmitida pela pulga do rato. Esta bactéria dirige-se aos linfonodos regionais próximos do local da picada e desenvolve uma resposta local, inflamatória e agressiva (forma uma bubão). A seguir, alcança a corrente sanguínea e pode dar uma sepse. A partir da corrente sanguínea atinge outros órgãos e um dos mais importantes é o pulmão. Desse modo, as pessoas que estão na fase pulmonar (excreção da bactéria pela respiração) podem transmitir para outras pessoas.
- A peste é uma doença endêmica. Pode acontecer em qualquer lugar. Acontece no Brasil, principalmente em regiões do Nordeste (local onde existem focos endêmicos).
- A *Y. tuberculosis* e a *Y. enterocolitica* são transmitidas por meio de água e alimentos contaminados. A seguir, alcançam o íleo e, posteriormente, os linfonodos regionais. Assim, podem provocar uma inflamação dos linfonodos mesentéricos e uma ileíte, simulando uma apendicite aguda. De outro modo, podem induzir uma apendicectomia quando na realidade não se trata de uma apendicite, e sim de uma mesenterite ou de uma ileíte. Essas bactérias podem ou não causar diarreia.
- Elas entram na célula intestinal por meio da célula M e podem alcançar a lâmina própria.

Y. enterocolitica* e *Y. pseudotuberculosis

- Principais reservatórios: roedores, gado, aves.
- Porco → principal reservatório para *enterocolitica*.
- A transmissão também ocorre pelo contato com animais domésticos como cães e gatos.

Transmissão

- Por meio de fezes de animais (inclusive cães, gatos) e de pessoas infectadas que podem contaminar alimentos e fontes de água.
- Transmissão inter-pessoal: em condições de aglomeração e sanitárias inadequadas.

➤ *Y. enterocolitica* sobrevive bem em alimentos congelados e se multiplica em temperatura de geladeira. Ela aumenta na geladeira e pode sobreviver congelada (neste caso não cresce/aumenta). Trata-se de uma bactéria psicrófila.

Y. enterocolitica

Fatores virulência

- Proteínas de membrana externa (adesão e invasão): plasmídeo.
- Inv = invasina (cromossoma).
- Ail = invasina e proteção lise do soro (cromossoma).
- yadA = adesina (plasmídeo).
- Sistema de secreção tipo III (aproximadamente 29 proteínas secretadas).
 - Yop: Yersinia outer membrane proteins (plasmídeo) – inibição pelo Cálcio em meio de cultivo.
 - Grupos de Yop também formam poros na membrana da célula alvo.
 - Grupos injetados no citosol da célula – funções diversas.
- Enterotoxina termoestável (Yst como a Sta de ETEC)
- Sideróforo: Yersinabactina

Sintomas de infecção

- **Menor de 2 anos:** febre, dor abdominal e diarreia (às vezes sanguinolenta) 4 a 7 dias após a exposição e duração de 1 a 3 semanas ou mais.
- **Crianças mais velhas e adultos:** febre e uma dor no lado direito do abdome. Simula apendicite aguda. Na realidade é ileíte terminal e linfadenite mesentérica.
- Em pequena proporção de casos há complicações como artrite e septicemia.

Diagnóstico

Existem antisoros no comércio.