

Segunda-feira, 09 de Outubro de 2006.  
Prof. Liliana.

## Neisseria

### Caso clínico 1

Um bebê de 6 meses dá entrada no PS com o seguinte quadro: febre de 39°C, taquidispnéia, palidez cutâneo-mucosa, cianose de extremidades, queda no estado geral e vômitos. Foi feito diagnóstico de otite e tratamento tópico. Não apresentou melhora. 8 dias depois deu entrada novamente no PS com aumento da FC, rigidez de nuca, abaulamento das fontanelas, erupções cutâneas, hipopnéia-hiperpnéia. Fez-se diagnóstico da **Síndrome de Waterhouse-Friedrichsen**.



Exantema



Hemorragia das adrenais: única forma de confirmar a síndrome. As hemorragias que ocorrem na meningococemia são mais comuns nas adrenais, por motivos desconhecidos.

**Neisseria meningitidis:** das bactérias que causam meningite é a mais preocupante porque os sintomas nem sempre são claros e porque leva à morte muito rapidamente.

### Caso Clínico 2

Pacientes de 42 anos, sexo masculino, procurou o PS de um hospital, queixando-se de descarga uretral purulenta, disúria por sete dias e dores em ombro e joelho direitos, referindo dificuldade em movimentá-los. Durante anamnese o paciente relatou ocorrência de sexo desprotegido há 12 dias e ao exame físico apresentava-se febril (38,5 graus), taquicárdico (FC=115bpm), taquipnéico (FR=27 RPM), com edema, dor à palpação e movimentação prejudicada das articulações.

Foi pedido um exame de líquido sinovial. A coloração de gram de líquidos sinoviais evidenciou a presença de intenso processo inflamatório (elevado número de PMN) e diplococos gram-negativos intracelulares. A maioria dos diplococos gram-negativos é intracelular.

A *Neisseria gonorrhoeae* que normalmente causa uma infecção localizada caiu na corrente sanguínea e alcançou a circulação. Esta bactéria pode atingir as articulações.

Realizou-se também cultivo dessas bactérias em meio seletivo de Thayer-Martin modificado (Agar chocolate que recebeu antimicrobianos) que permitiu o crescimento de colônias características de *Neisseria* spp. Prova da oxidase positiva (ela possui um citocromo que permite essa reação ao contrário das enterobactérias que são oxidase negativo, embora também sejam não fermentadores). A utilização desse meio especial é imprescindível, pois a *Neisseria* é extremamente sensível às condições ambientais, apresentando muita dificuldade em crescer nos outros meios de cultivo.

Paciente foi tratado com ofloxacina com melhora do quadro clínico geral e resolução das articulações atingidas após oito dias. Entretanto, não houve melhora do desconforto ao urinar, e apesar da diminuição da intensidade, o paciente manteve a descarga uretral. Exames laboratoriais adicionais foram solicitados.

Exames adicionais:

Pesquisa de Clamídia. Trachomatis por técnica de IF direta evidenciando a presença de corpos elementares. A clamídia é uma causa extremamente comum de uretrites: a causa mais comum de uretrites não gonocócicas. É

comum o indivíduo se infectar durante a relação sexual com essas duas bactérias. Essas duas espécies são patogênicas clássicas do Gênero *Neisseria* (as outras eventualmente podem causar doença).

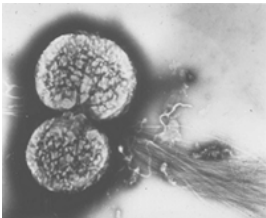
### **Família Neisseriaceae**

➤ Gêneros: *Neisseria* (diplococos sempre), *Branhamella* (diplococos sempre), *Moraxella* (cocobacilos), *Kingella* (bacilos).

➤ Todas são oxidase positivo e as *Neisseria* são catalase positivo.

Gênero	Oxidase	Catalase
<i>Neisseria</i>	+	+
<i>Branhamella</i>	+	-
<i>Moraxella</i>	+	-
<i>Kingella</i>	+	-

➤ As *Neisserias* são comumente encontradas aos pares (resultado de uma divisão celular incompleta), mas podem ser encontradas isoladas. O local onde uma bactéria entra em contato com a outra apresenta uma face mais achatada.



Diplococo

➤ São habitantes normais da membrana mucosa de oro e nasofaringe e, às vezes, de outras membranas mucosas. Na mulher pode fazer parte da flora normal do trato genital, ao contrário do homem. Em caso de suspeita de gonorréia feminina deve-se solicitar cultura. Neste caso, não se aceita só o Gram, porque há necessidade de identificar o tipo de *Neisseria*, para saber se é um sorotipo patogênico ou não. Como a *Neisseria* não faz parte da flora natural dessa região no homem, o Gram é capaz de confirmar a gonorréia.

### **Neisseria**

➤ 10 espécies → 2 patogênicas → *N. gonorrhoeae* e *N. meningitidis*.

➤ São extremamente sensíveis às condições ambientais, ou seja, é muito difícil de se contaminar com secreções presentes no ambiente, pois a bactéria morre rapidamente por dessecação. A transmissão requer contato íntimo: a *N. gonorrhoeae* requer o contato sexual, contaminação pelo canal do parto, etc e *N. meningitidis* requer contato próximo para que as secreções orais transmitam a bactéria.

➤ Deve-se proceder com bastante cuidado na coleta e armazenamento do material para não cometer erros diagnósticos: ambas as bactérias morrem rapidamente na geladeira. A *N. gonorrhoeae* é muito sensível à lipídios, não crescendo em ágar-sangue.

➤ As *Neisseria* apresentam variação alélica: as diversas estruturas de proteínas podem sofrer uma variação gênica muito grande, levando ou não à mutação silenciosa por substituição de nucleotídeos. Tudo isso pode dar origem a proteínas diferentes: pode haver a formação de uma ORF que vai levar à uma proteína truncada, impedindo que uma proteína de penetração possa ser expressa, por exemplo.

A pilina tem um gene expresso e uma série de alelos silenciosos. Pode haver uma recombinação entre os genes silenciosos e entre os que estão sendo expressos. Desse modo, formam uma variação antigênica de pilis muito grande e, assim, não se forma resposta protetora contra esse antígeno na *Neisseria gonorrhoeae*. Ou seja, pode haver repetição de infecções.

A *Neisseria* sofre transformação espontaneamente, ou seja, incorpora fragmentos de DNA de outras *Neisseria* que estão no meio: assim, uma bactéria pode passar a produzir cápsula, por exemplo.

As formas de ocorrência dessa variação alélica são:

A) Substituição.

B) Sequências repetitivas

C) Recombinação com genes silenciosos (ocorre muito nos genes que codificam os Ag do pili, de modo que o organismo não possui tempo hábil para produção de anticorpos. Pode haver repetição de infecções.).

D) Transformação: ocorre com muita facilidade nas *Neisseria*. Uma bactéria pode passar a produzir cápsula ou adquirir outras formas de resistência.

## N. gonorrhoeae

### Fatores de virulência

**A) Fator de aderência:** o pilus Tfp ou Pilus tipo IV. Estrutura que faz aderência à superfície da célula. Liga-se a receptores do tipo CD46 presente na superfície de inúmeras células e que também é utilizado por alguns vírus. É uma estrutura que se modifica muito.

**B) Proteínas de membrana externa que fazem parte da classe das porinas:** acredita-se que elas também participem da invasão da célula, que interfiram na maturação do fagossoma e que induzam a apoptose de células epiteliais e fagócitos.

**C) LOS (lipoOligossacarídeo):** é uma endotoxina (assim chamada porque está presente na parede da bactéria) muitíssimo importante na N. meningitidis, sendo responsável pelo choque tóxico. A Neisseria produz LOS em excesso, então, além do LOS da parede há liberação para o meio externo. Às vezes, o choque não se dá pelo maior número de bactérias e sim por um maior número de LOS e de citocinas inflamatórias. Também é importante na N. gonorrhoeae e leva à resistência ao soro quando sializados (cobertos de ácido siálico).

**D) OPA:** proteína que possui variações antigênicas diferentes. OPA porque a bactéria que expressa essa proteína forma colônias opacas.

Na N. gonorrhoeae pode ser OPA<sub>CEA</sub> porque se liga a receptores CEA-CAM (ou CD66) expressos em quase todas as células do hospedeiro. Relacionado com aderência, invasão e transcitose.

Também há a OPA<sub>HS</sub> que se liga ao sulfato de heparana da superfície da célula. Relacionado com aderência e invasão.

Enfim, são estruturas relacionadas com a aderência do microrganismo.

**E) Cápsula:** a N. gonorrhoeae não possui cápsula, ao contrário da N. meningitidis. Desse modo, a N. gonorrhoeae morre rapidamente na corrente sanguínea e por isso suas infecções são na maioria localizadas na mucosa. Esta bactéria é rapidamente lisada pelo complemento ou fagocitada na corrente sanguínea. Pode, eventualmente, formar uma infecção disseminada.

**F) Variação antigênica da pilina:** 10 a 7 antígenos diferentes podem ser formados.

Existem vários genes silenciosos e um expresso que recombinam-se entre si dando a origem a uma gama enorme de pilis. Há expressão alternada desses diversos Ag.

**G) Variação de fase:**

A proteína pilina tem uma porção que é clivada para ser introduzida na parede da bactéria. Se a clivagem ocorre na extremidade aminoterminal a célula bacteriana pode ser Pil+ (fimbriada). Se a clivagem ocorre na porção aminoterminal, mas mais próxima da extremidade carboxiterminal formam-se bactérias Pil- (não fimbriada). Ou seja, ora a bactéria pode estar expressando o pili, ora não (não significa que isso seja bom para a bactéria, simplesmente acontece).

**H) Variação de fase da proteína Opa:** pode haver uma mudança do quadro de leitura que impede a síntese da proteína.

**I) Incorporação de Ferro:** quando há redução do ferro no meio extracelular a bactéria passa a expressar proteínas presentes na sua membrana externa que captam ferro da lactoferrina e da transferrina do meio e o internalizam. Essas proteínas são chamadas de Tbp.

### Patogênese:

O pili se liga a células epiteliais colunares não ciliadas. A ligação inicial é pelo pili com o CD46. A partir daí a CEA liga-se à CEACAM ou ao sulfato de heparana. A bactéria realiza uma transcitose e passa para camada subepitelial. No linfócito T a bactéria não é internalizada (o tipo de CEACAM à que a bactéria se liga não promove internalização e sim inativação desta célula de defesa). Entretanto, a bactéria pode ser encontrada no interior de fagócitos granulócitos e monócitos. A bactéria também pode cair na circulação sanguínea (principal forma da bactéria chegar nas meninges e também nas articulações).

A N. gonorrhoeae não possui cápsula e desse modo morre rapidamente na corrente sanguínea e por isso suas infecções são na maioria infecções localizadas na mucosa. Ela é rapidamente lisada pelo complemento ou fagocitada na corrente sanguínea. Pode eventualmente formar uma infecção disseminada.

A N. gonorrhoeae pode ligar a proteína OPA<sub>HS</sub> ao sulfato de heparana que por um mecanismo intracelular altera o citoesqueleto e promove a internalização da bactéria. A proteína OPA também pode se ligar a componentes da matriz extracelular (fibronectina etc) juntamente com componentes da célula o que também pode promover a invasão.

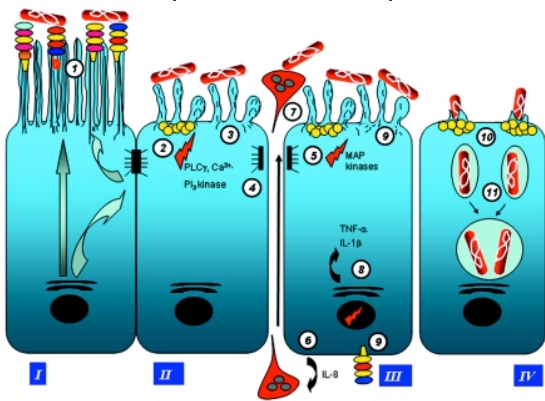
Podem se ligar a alguns tipos de receptores de CEACAM. Exatamente por isso essa bactéria vai ser encontrada dentro de PMN independente de ser opsonizadas: na realidade é um suicídio porque a bactéria vai morrer. Ou seja, a bactéria pode induzir sua própria internalização.

As células endoteliais não expressam CEACAM. Mas na presença de LOS podem passar a expressar. Desse modo, permitem que a bactéria faça uma transcitose e caia na corrente sanguínea. Como a *N. gonorrhoeae* não é capsulada, a resposta inata controla a disseminação desse microrganismo.

### Esquema de Patogênese da Ana Costa:

#### Patogênese da *N. gonorrhoeae*:

1. Anclagem: O pili se liga a células epiteliais colunares não ciliadas. A ligação inicial é pelo pili com o CD46.
2. Aderência: as OPAs ligam-se ao CEACAM ou ao sulfato de heparana. A *N. gonorrhoeae* pode ligar a proteína OPAHS ao sulfato de heparana que, por ligação à proteínas intracelulares, altera o citoesqueleto e promove a internalização da bactéria. A proteína OPACEA pode se ligar a componentes da matriz extracelular (fibronectina, vitronectina, etc), que por sua vez ligam-se às integrinas celulares e promovem a invasão.
3. Indução da internalização.
4. Invasão e transcitose: As células endoteliais não expressam CEACAM, mas na presença de LOS podem passar a expressar. Assim, a bactéria pode realizar transcitose, ir para camada subepitelial e para corrente sanguínea. Como a *N. gonorrhoeae* não é capsulada a resposta inata controla a disseminação desse microrganismo. Além disso, ela estimula a produção de citocinas, o que justifica as descargas purulentas observadas na infecção por esse tipo de bactéria.
5. Passa para camada subepitelial.



➤ **Locais da infecção por *N. gonorrhoeae*:** a bactéria pode estar presente na luz uretral, vaginal (só na de meninas porque o epitélio de mulheres adultas impede a infecção por ser estratificado), anal e faringe (pode haver faringite por *N. gonorrhoeae*). Os leucócitos migram para a luz da região atingida e há visualização de uma infecção geralmente purulenta.

➤ **Reservatório:** indivíduo infectado.

➤ **Transmissão:**

- Contato sexual:

Risco:

Mulheres → 50%.

Homens → 20% (a secreção prostática é inibidora).

▪ Canal do parto: uma porcentagem das mulheres é assintomática e as crianças podem desenvolver uma oftalmia neonatal. Nos hospitais pinga-se nitrato de prata no olho ou usa-se eritromicina em pomada.

➤ **Incubação:** 2 a 5 dias.

➤ **Sintomas:** há secreção uretral purulenta em 95% dos casos no sexo masculino, ou seja, a maioria dos homens é sintomática. 30% a 50% das mulheres são assintomáticas e por isso não são tratadas. Assim, podem apresentar infecção genital ascendente em 10 a 20% dos casos. Pode haver DIP (doença inflamatória pélvica) caracterizada por: salpingite, abscessos tubo-ovarianos e, às vezes, peritonite pélvica. Tudo isso pode levar à esterilidade. Essa infecção genital ascendente também pode ocorrer em homens: uma epididimite que pode ocasionar prostatites.

O PG da bactéria é tóxico para células ciliadas: promove estase ciliar e morte das células ciliadas. A ausência do movimento dos cílios facilita a movimentação ascendente.

Pode haver uma conjuntivite causada por *N. gonorrhoeae* no adulto, quando o indivíduo após manusear o órgão genital conduz a mão aos olhos.

➤ **Complicações:** IGD (doença gonocócica invasiva) → Síndrome dermatite-artrite-enossinovite, artrite séptica, endocardite e meningite. Epidimite, prostatite, abscessos periuretrais, etc.

➤ **MBL (lectina ligadora de manose):** algumas bactérias possuem sialilase que remove ácido siálico de células do hospedeiro e o põe na própria célula bacteriana. O MBL que normalmente se ligaria à bactéria, ativaria o complemento e eliminaria a célula bacteriana não consegue fazer isso. Assim, algumas cepas soro resistentes possuem essa sialilase que permite a sobrevivência do microrganismo na circulação sanguínea.

Pacientes com deficiências dos fatores do complemento apresentam 6000 vezes mais chance de infecções invasivas.

➤ **Tratamento:**

- Penicilina → ocorreu resistência por beta-lactamases e PBPs.
- Espectinomicina → resistência por mutação.
- Tetracilina → resistência por gene tetM.
- Quinolona → resistência gene parC/gyrA.
- Hoje utiliza-se: ceftriaxona, ceftaxime, fluorquinolona.

**N. meningitidis**

- Estrutura e os fatores de virulência são semelhantes aos da *N. gonorrhoeae*
- Há diferenças nas proteínas OPA: Opa é análoga à OPACEA. OPc é análoga à OPAHS.
- Possuem cápsula ao contrário da *N. gonorrhoeae*: para uma bactéria sobreviver na corrente sanguínea ela precisa do sistema captador de ferro e, mais importante do que isso, de cápsula. Por isso a doença causada por essa bactéria vai ser uma doença disseminada.
- De acordo com a estrutura capsular a bactéria pode ser dividida em grupos.
- Dividida em 12 sorogrupos diferentes: **A, B, C, D, H, I, K, L, X, Y, Z** e **W135**. A, B, C, X, Y e W135 são os mais freqüentes.
- Também pode ser dividida em 10 subtipos e 20 sorotipos (de acordo com proteína de membrana externa) e 13 imunotipos (de acordo com a estrutura do LOS).
- A = mais comum em países desenvolvidos
- B, C e Y = mais comum em países subdesenvolvidos.
- Os sorogrupos A, B e C são responsáveis por 90% das meningites.

**Transmissão:** por contato com secreções respiratórias.

- Facilitada por fumo, períodos mais secos, doença respiratória prévia (tornam a mucosa mais seca ou com mais lesões, o que favorece a invasão pelas bactérias).
- Sugere-se que materiais como copos possam transmitir, desde que o contato seja imediato.

**Portador**

- Há muitos portadores no mundo. Muitas pessoas possuem essa bactéria povoando naturalmente nasofaringe (32%), tonsilas e orofaringe (19%) e saliva (0,4%). Isso mostra que a infecção pela saliva requer um contato muito próximo.
- menor de 4 anos: menos de 3%.
- 15-24 anos: 24-37%.
- Maior de 24 anos: menos de 10%.
- O portador pode ser: crônico (30%), intermitente (30%) e transitório (40%).

**Infecção sistêmica e potencialmente fatal**

- O fator da bactéria importante para isso é a cápsula.
- O fator do hospedeiro importante para que isso aconteça é a deficiência de anticorpos anti-capsulares.
- A infecção costuma ocorrer entre 6 meses e 24 meses porque houve redução dos anticorpos maternos. Depois desse período reduz-se a infecção/doença (o indivíduo pode ser portador) porque se formam anticorpos. Esses anticorpos podem ser produzidos porque o indivíduo foi infectado por:
  - *N. meningitidis*,
  - *N. lactamica* que faz parte da microbiota natural e que promove produção de anticorpos também contra *N. meningitidis*.
  - *E. coli* K1 que é semelhante ao sorogrupo B.
  - *E. coli* K92 que é semelhante ao sorogrupo C.
  - *Bacillus pumilus* A que é semelhante ao sorogrupo A.

De outro modo, outras espécies do gênero *Neisseria* e, até mesmo de outros gêneros, podem induzir produção de anticorpos.

**Síndromes clínicas**

A maioria dos indivíduos é portador, mas pode haver:

- **Meningite:** com taxa de mortalidade maior do que 70% nos não tratados e aproximadamente igual a 20% nos tratados.
- **Meningococcemia** (com ou sem meningite): o microrganismo, como na gonococcemia, tem afinidade pela pele.
- **Outras:** pneumonia (5-15% infecções invasivas), artrite séptica, uretrite, conjuntivite e pericardite.

O LOS é responsável pela necrose de áreas extensas e por hemorragias intensas (coagulação intravascular disseminada gera déficit de fatores da coagulação).

Síndrome de Waterhouse-Friederichsen: a hemorragia das adrenais é muito comum. A adrenal é o órgão mais comum de hemorragias.

O exantema é indicação de que pode ser *Neisseria meningitidis*: a meningite causada por vírus também pode causar exantema e a infecção por *Haemophilus* não provoca.

### Tratamento

- Penicilinas e cefalosporinas.

### Prevenção e controle

- Para os indivíduos que possuem o maior risco de ter a doença:
  - Contatos intradomiciliares: 1000x mais possibilidade do que a população em geral.
  - Colegas de classe: 50x mais possibilidade.
  - Todos aqueles que entraram em contato com o paciente doente nos últimos 5 dias por pelo menos 4 horas/dia.
  - Utiliza-se rifampicina ou sulfonamida que esterilizam de *Neisseria* a mucosa da orofaringe.

➤ Outra possibilidade é o uso de vacina tetravalente contra os sorogrupos A, C, Y e W135. Na faixa etária dos 6 meses aos 3 anos não há efetividade desta vacina porque as células não criam memória contra polissacarídeo.

Não existe vacina para o polissacarídeo B (para o sorogrupo B) porque o Ag é muito semelhante ao polissacarídeo de células neuronais.

- Vacina conjugada (MenC): iniciou em 2000 na Inglaterra contra os sorogrupos A e C. Hoje faz-se contra o sorogrupo C. Promoveu redução de 80% das infecções invasivas produzidas pelo sorogrupo C.
  - Indicação: 2-4 meses: 3 doses. 5-11 meses: 2 doses. 1-17 anos: 1 dose.
  - Os trabalhos mostram que 4 anos depois da vacinação os níveis de anticorpos são insuficientes para oferecer defesa.

### Diagnóstico

Pelo teste de gram.

### Transporte

Na placa de cultivo, à temperatura ambiente, com CO<sub>2</sub> (máx 6-12 horas).

Se as amostras foram retiradas de sítios que possuem microbiota múltipla utilizam-se meios seletivos, com antimicrobianos na placa (vancomicina, colistina, nistatina, trimetoprim).

Sítios não colonizados não precisam de meios seletivos, só de meios ricos: Agar-chocolate e Agar-sangue. No sangue a *N. gonorrhoeae* não cresce. Nos postos de saúde existem kits de Agar-sangue.

### Testes sorológicos

Importantes em líquido se o paciente já começou a fazer tratamento. A bactéria morre muito rapidamente, mas os antígenos permanecem no líquido. Faz-se uma reação de aglutinação que permite identificação do sorogrupo.