

Terça-feira, 17 de outubro de 2006.  
Profa. Ana Paula.

### **Staphylococcus.** **Características**

➤ CGP → arranjos em cacho de uva, imóveis, BAC resistentes, catalase positivos e com crescimento em até 10% de sal.

➤ Foram identificadas 35 espécies no gênero e 17 subespécies.

➤ História:

Em torno de 1880 o *S. aureus* foi descoberto e já definido como bactéria patogênica. Os demais Estafilococos (*Staphylococcus* spp) já eram considerados não patogênicos.

A capacidade de coagular o plasma diferencia os estafilococos aureus dos não aureus. Essa habilidade constitui um fator de virulência presente no *S. aureus*: dois tipos de testes são utilizados para indicar que o *S. aureus* são coagulase positivos e identificá-los.

As demais espécies são ditas coagulase negativas: são mais de 20 espécies que podem estar envolvidas em infecções, mas que não podem coagular o plasma.

Entretanto, vale dizer que existem outras espécies de estafilococos coagulase positivas que colonizam animais e não o homem.

O *S. aureus* possui um conjunto de fatores de virulência que lhes permite causar infecções em indivíduos imunocompetentes.

A partir da década de 80 os coagulase negativos passaram a ser considerados patógenos oportunistas porque não apresentam fatores de virulência que os capacitem a causar infecções em imunocompetentes. Entretanto, em âmbito hospitalar encontram pacientes susceptíveis e podem causar doenças. São exemplos de coagulase negativos: *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. homini*. Muitos deles estão relacionados com bacteremia oriunda de procedimentos invasivos.

Os estafilococos são os principais colonizadores de pele, especialmente os coagulase negativos e, dentro deste grupo, o *S. epidermidis*. O *S. aureus* também é encontrado em pele, mas seu sítio primário de colonização é a narina.

➤ Importância:

- Microbiota normal do homem e de animais.
- Alta frequência de estafilococcias hospitalares.
- Multiresistência a antimicrobianos.

**Staphylococcus aureus**

- Presente nas narinas anteriores (30-50%), principalmente em adultos.
  - Espécie coagulase-positivo → infecção em humanos.
  - Patógeno clássico.
  - Prevalente em infecções hospitalares.
  - **Fatores de virulência:** envolvidos na ligação/invasão do *S. aureus* à célula hospedeira.
    - Ácidos teicóicos e lipoteicóicos: ação de adesinas.
    - Cápsula: constituída por polissacarídeos extracelulares. Sabe-se que polissacarídeos não são muito eficientes na ativação do sistema imune. A diferença dos polissacarídeos na cápsula permite agrupar o *S. aureus* em 11 tipos sorológicos. As cepas produtoras de cápsula apresentam maior adesão à matriz e maior proteção contra a fagocitose. São tipos mais comuns (?): CP5 e CP8.
    - Proteínas de ligação à fibronectina (FnpA e FnpB), ao fibrinogênio (ClfA e ClfB), fator “clumping”, ao colágeno (CNA) – MSCRAMM (microbial surface components recognising adhesive matrix molecules).
- Alguns tipos celulares sobrevivem no interior de células e isso também é um mecanismo de escape porque a bactéria fica escondida do sistema imune.

**Observação sobre patogênese bacteriana**

1. Adesão: é mais do que a ligação da bactéria com o receptor da célula.
2. Colonização: começa quando a bactéria começa a expressar uma série de fatores que auxiliam a capacidade de tornar-se ativa metabolicamente e se multiplicar. Inicia-se a expressão de vários fatores de virulência ligados à degradação do tecido, obtenção de ferro (proteases, quelantes e toxinas). Enfim, objetiva garantir um ambiente propício, especialmente em termos nutricionais, para a bactéria entrar em reprodução. A partir dessa fase pode ou não haver a terceira.
3. Doença: destruição tecidual caracteriza a doença. Há expressão de fatores de virulência que fazem com que a bactéria persista mesmo após a resposta imune ter sido montada.

Isso justifica porque o *S. aureus* não se manifesta no nariz: o tipo de interação das proteínas de superfície que reconhecem as adesinas de superfície presentes na célula faz com que o *S. aureus* tenha uma vida semelhante à de um saprófito em simbiose. Se esse *S. aureus* atinge outros sítios a interação pode permitir sua multiplicação: a barbação abre portas para a colonização da bactéria que anteriormente estava na pele e pode gerar foliculite.

Ostemielite: pode ser causada pelo *S. aureus*. O problema desta infecção é a quantidade reduzida de antimicrobiano que chega à bactéria. Deste modo, pode haver sensibilidade por parte do microrganismo, mas a quantidade de droga que o alcança é pequena.

**Mecanismos de escape do SI do hospedeiro:** como a bactéria foge do sistema imune.

- Superantígenos: proteínas capazes de se ligar ao MHC II ativando células T de forma não específica. Assim, impedem o estabelecimento de uma RI específica.
- Enterotoxinas A, B, C, D e E; TSST-1 → pode conduzir ao choque séptico.
- Proteína A (SpA): permite a ligação da bactéria à porção Fc da IgG (inibição da fagocitose por macrófagos). Essa proteína é utilizada na identificação do *S. aureus* e permite que este esconda componentes de parede e retarda a resposta imune.
- Toxinas.
  - Toxinas esfoliatinas A, B, C e D: degradam moléculas de adesão do epitélio cutâneo. Deste modo, são importantes na Síndrome da Pele escaldada porque degradam a desmogleína e levam à soltura da pele. Essas toxinas também têm participação no impetigo bolhoso.
  - Leucocidinas e alfa-toxina: atuam sobre leucócitos (preocupante). Algumas infecções por cepas de *S. aureus* que secretam leucodinas e alfa-toxina podem começar como simples dermatites e evoluir para uma situação muito mais grave (sistêmica). Essas toxinas são imunomoduladores negativos.
- Enzimas: são exploradas como uma possível forma de identificar o *S. aureus* em laboratório.
  - Coagulase: transforma protrombina em trombina e, assim, ativa a formação de fibrina a partir do fibrinogênio (coagulação do plasma).
  - Catalase
  - DNase

- Hialuronidase e lipase
- Estafiloquinase: dissolve coágulos de fibrina.
- Proteases: serina protease V8, tiol protease e metaloproteases (inativação de IgG), proteção contra peptídeos dos hospedeiros (defensinas), atuação na invasão tecidual, atuação na busca de nutrientes.

### Síndromes Clínicas

As infecções mais comuns causadas por *S. aureus* são as superficiais: a acne é causada por uma bactéria anaeróbia que pode estar associada ao estafilococos.

A diabetes ou qualquer condição imunossupressora (fatores de risco) aumenta a chance de desenvolvimento de infecções, mesmo as superficiais, nos indivíduos colonizados por *S. aureus*.

O *Staphylococcus aureus* é o líder de infecções hospitalares, seguido por *Pseudomonas aeruginosa*: se um indivíduo é internado e é portador de *S. aureus* ele possui 30% mais chance de desenvolver infecção hospitalar pelo mesmo parasita.

São doenças causadas por *S. aureus*: infecções superficiais, pé diabético, furúnculo, carbúnculo, foliculite (similar a uma acne), abscesso (comum até em jovens, o que levanta a possibilidade de susceptibilidade genética ao parasita), síndrome da pele escaldada (a toxina produzida a partir de um sítio primário de infecção é dispersa via corrente sanguínea e, desse modo, não é contagioso podendo-se entrar em contato com as feridas já que a bactéria encontra-se no sítio primário), impetigo bolhoso (há formação da bolha como na síndrome da pele escaldada e há caráter infeccioso porque a bolha é o sítio primário de infecção. Desse modo, a toxina atua no local de colonização e também ataca a desmogleína), etc.

- Infecções de pele: furúnculos, carbúnculos, foliculites, abscessos, impetigo e celulite;
- Síndrome da pele escaldada ou Doença de Ritter: descolamento de extensas áreas da epiderme com destruição da desmogleína pela esfoliatina. Não contagiosa.
- Síndrome do choque tóxico (TSS): tampões absorventes nos anos 80, produção da exotoxinas TSST-1 ou atualmente cepas produtoras da enterotoxina B (não associados com menstruação).
- **Intoxicação alimentar:** causada por cepas produtoras de enterotoxinas termoestáveis presentes em carnes processadas, creme de leite, saladas e sorvetes. Há produção de enterotoxinas no alimento e após 3 horas do consumo do alimento há vômito. Dependendo da quantidade de toxina/sensibilidade do indivíduo pode-se haver choque e por esse motivo as pessoas com intoxicação alimentar são acompanhadas em hospital, mesmo considerando que a maioria dessas enfermidades é autolimitante. Quando a intoxicação está relacionada com enterobactéria o quadro depende da colonização dessa bactéria e há manifestação de diarreia.
- Osteomielite e artrites sépticas: enfermidades que uma vez instaladas são de difícil tratamento. Assim, o indivíduo fica sempre sob uma terapia antimicrobiana que não apresenta muito sucesso devido ao problema da chegada do antimicrobiano ao sítio de infecção em condições ideais.
- Infecções hospitalares: bacteremia/septicemia, pneumonia (por aspiração ou pela bacteremia e muitas vezes em relação com a fibrose cística), infecções do trato urinário, endocardite (em válvulas naturais ou artificiais e também presente em usuários de drogas injetáveis) e infecção de sítio cirúrgico. A infecção respiratória por *S. aureus* em pacientes portadores de fibrose cística normalmente é substituída por bacilos gram-negativos não fermentadores, como a *Pseudomonas aeruginosa*.

**Staphylococcus spp / coagulase-negativos (SCN)**

- Predominam na microbiota normal de humanos.
- Exs: *S. epidermidis*, *S. hemolyticus*, *S. capitis*, *S. caprae*, *S. hominis*, *S. lugdunensis*, *S. schleiferi*, *S. simulans*, *S. xylosus* e *S. warneri*.
- Grupo de microrganismos oportunistas: o *S. epidermidis* é o principal causador de infecções em cateteres (mais do que o próprio *S. aureus*).
- Baixa virulência: não há infecções sem o paciente apresentar algum fator de risco.
- Prevalentes em IH: principalmente em bacteremias relacionadas ao uso de cateteres e próteses.
- Dentro dos coagulase negativos o *S. epidermidis* é o que mais causa infecções e por isso é o mais estudado. Sua virulência está relacionada à produção de biofilmes. De outro modo, só o *S. epidermidis* é capaz de produzir biofilmes.
- Apesar não de não produzirem biofilmes, as outras espécies de coagulase negativos sempre são o segundo ou terceiro agente de IH, principalmente de endocardites.
- O que justifica a participação de coagulase negativos no ambiente hospitalar é o caráter de multi-resistência que lhes é peculiar e também o fato do *S. epidermidis* estar muito disseminado.
- Exemplo clínico: durante algum tempo para realização de cirurgia plástica efetuava-se uma tricotomia acentuada da genitália. Durante esse período percebeu-se que o número de infecções pós-operatórias havia aumentado e chegou-se à conclusão de que houve eliminação da microbiota normal inibitória e que com isso o estafilococos crescia em número e causava a infecção. Atualmente, realiza-se cirurgia plástica com tricotomia parcial e o número de infecções pós-operatórias é bastante reduzido.
- Observação sobre a formação de biofilmes:

O biofilme é sintetizado a partir da interação da bactéria com polímeros.

O primeiro evento na síntese do biofilme é a lesão: a bactéria produz uma matriz polissacarídica mais frouxa (slime). Antigamente o biofilme era chamado de slime, mas percebeu-se que como essa matriz mais fluida apresentava células o mais correto é chamá-la de biofilme. Essa matriz permite a melhor comunicação entre as células (quorum sense) até em termos de regulação da sua fase de crescimento que está relacionada aos nutrientes, pH e osmolaridade. A sinalização entre as células bacterianas ocorre pela secreção de peptídeos. Essa matriz mais fluida funciona como um indicador de densidade populacional: as bactérias vão secretando seu próprio peptídeo sinalizador e também possuem um receptor para esse peptídeo (isso também é válido para *S. aureus* e *Pseudomonas*). Assim, ao mesmo tempo em que secreta peptídeos, a bactéria também interage com o que já foi secretado. Dependendo da quantidade de peptídeo no meio, a célula bacteriana consegue saber se existem poucas ou muitas células ao redor dela. Tudo isso de forma conjunta ajuda a secretar melhor o slime e contribui para o crescimento bacteriano.

Esse biofilme acaba diminuindo a ação de antibióticos porque minimiza a permeabilidade dos antibióticos: até por uma interação de carga o antibiótico não atinge a parte central do biofilme que é o local onde as bactérias estão mais ativas (se reproduzindo mais) e, desse modo, mais vulneráveis.

Se a resposta imune atacar o biofilme, esse ataque será só superficial, ou seja, as bactérias encontram-se "protegidas".

**Fatores de virulência**

- Proteína de ligação a fibrinogênio (Fbe) em *S. epidermidis*.
- Produção de Biofilme (slime): adesina intercelular polissacarídica (PIA), adesina capsular polissacarídica (PS/A) e antígeno associado ao slime (SAA).
- Hemaglutininas.
- Outras enzimas: nucleases, proteases, hemolisinas, toxinas.

**Síndromes Clínicas**

- Predominantemente hospitalares nas quais a espécie *S. epidermidis* é a mais freqüente.
- *S. haemolyticus* é a segunda espécie mais prevalente em bacteremias.
- *S. lugdunensis* e *S. schleiferi*: são espécies novas com potencial virulento similar ao do *S. aureus* e que participam da formação de abscessos. Apresentam patogêneses similares ao *S. aureus* e por isso suas prevalências são subestimadas, já que muitas vezes suas infecções são diagnosticadas como causadas por *S. aureus*.

➤ *S. saprophyticus*: segundo agente em infecção urinária comunitária entre mulheres jovens e sexualmente ativas. O primeiro agente é a *E. coli* (com mais de 80% de prevalência) seguida por esse parasita, ou seja, mesmo sendo o segundo agente não é tão prevalente assim.

### **Resistência aos antimicrobianos em estafilococos**

- Oxacilina e beta-lactâmicos.
- Eritromicina, clindamicina, tetraciclina, cloranfenicol, trimetropim/sulfametoxazol, aminoglicosídeos, quinolona.
- Mupirocina
- Quinupristim/dalfopristim e linezolida.
- Amostras de estafilococos resistentes à meticilina ou oxacilina.
- Cepas MRSA (methicilin resistant *S. aureus*).
- Emergência de CEPAS MRSA desde os anos 70.
- SCN apresentam resistência à oxacilina – cepas MRS.
- Taxas de resistência à oxacilina:
  - NNISS: 53,5% para *S. aureus* e 88,2% para SCN (2000).
  - SENTRY: 1,8% a 73,8% para *S. aureus* e maior que 70% para SCN (1997-1999).
- Multiresistência aos antimicrobianos associada ao gene Meca
- Determinação da susceptibilidade à oxacilina.
- Amostras borderline de *S. aureus*.

Histórico: o tratamento dos estafilococos era realizado com Penicilinas Semi-sintéticas resistentes a beta-lactamases (oxacilina e meticilina). Entretanto, tempos depois do uso destas drogas surgiu uma cepa de *S. aureus* resistente a meticilina.

Essa resistência se dá pela presença do gene Meca que expressa as proteínas PBP2a ou PBP2' que se insere num cromossomo (inserido no SCCmec – staphylococcal cassette chromosome mec) e que não está presente em plasmídeo. Esta última característica é importante porque estando em um cromossomo o gene é sempre passado para a prole ao passo que se estivesse em um plasmídeo poderia algumas vezes se perder durante a reprodução bacteriana. Estas proteínas possuem baixa afinidade aos beta-lactâmicos e se um estafilococo apresenta Meca significa que ele não vai responder a nenhum beta-lactâmico, mesmo que in vitro se observe certa sensibilidade. Ao desvendarem a localização/organização do gene viu-se que o Meca está num cassete: essa organização gênica permite a introdução de genes de resistência à tetraciclina, eritromicina, etc. Com a pressão seletiva e a troca genética o cassete vai se tornando cada vez mais complexo. Ele aceita genes de resistência a outras classes de antimicrobianos. Difícilmente encontra-se *S. aureus* resistente só à penicilina.

A multiresistência é definida quando há resistência a pelo menos 3 classes de antimicrobianos. Assim, deve-se definir rapidamente se o *S. aureus* é Meca positivo ou não e comunicar aos órgãos de infecção.

A antibioticoterapia não é simples: não adianta o *S. aureus* ter sensibilidade à rifampicina porque esta e outras não podem ser utilizadas em infecções sistêmicas (septicemia).

Desse modo, uma alternativa às penicilinas são os glicopeptídeos (vancomicina e teicoplanina) que também atuam na parede (se ligam a d-ala e impedem que PBP formem ligações cruzadas). Sabia-se da existência de enterococos resistentes aos glicopeptídeos e em 97 houve o primeiro relato de *S. aureus* com resistência a vancomicina (trata-se de uma resistência discreta).

O que previa-se finalmente aconteceu: em 2004, o CDC comunicou que aconteceu in vivo a transferência de genes de enterococos para *S. aureus*.

### **Tratamento, prevenção e controle**

- Vacina – em desenvolvimento.
- Penicilina ou cefalosporinas para as cepas sensíveis.
- Vancomicina: último recurso para cepas MRS ou MRSA.
- Melhor opção: controle e prevenção da IH.
- Descolonização nasal dos portadores de MRSA.
- Triagem de pacientes colonizados com isolamento dos mesmos: evitar transmissão paciente-paciente.
- Uso racional de ATB.