

Segunda-feira, 30 de Outubro de 2006.

Bactérias anaeróbias. Profa. Ana Paula.

- A maioria das infecções causadas por bactérias anaeróbias é diagnosticada clinicamente.
  - Com relação à respiração as bactérias podem ser:
    - **Bactérias aeróbias:** são aquelas que utilizam oxigênio comoceptor final de elétrons.
    - **Bactérias anaeróbias obrigatórias:** são aquelas que não utilizam oxigênio comoceptor final de elétrons. Esta tarefa é realizada por substâncias como nitrogênio, compostos de enxofre e ferro. Estas bactérias são sensíveis ao oxigênio porque não possuem sistemas antioxidantes para eliminar os radicais derivados do oxigênio, entre eles: O<sub>2</sub><sup>-</sup>, OH<sup>-</sup> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. De outro modo, bactérias anaeróbias não possuem superóxido dismutase, catalase e peroxidase para eliminar os radicais livres ou, se possuem, estão em pequena quantidade não sendo eficientes a ponto de garantir a sobrevivência na presença de oxigênio. Enfim, bactérias anaeróbias obrigatórias não utilizam oxigênio comoceptor de elétrons e este gás é tóxico para elas.
- Obs: Bactérias anaeróbias facultativas realizam fermentação na escassez de oxigênio.

### Limitação diagnóstica

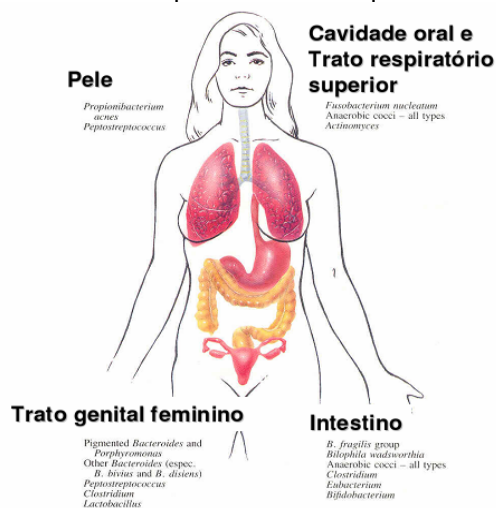
Do exposto acima, percebe-se uma **limitação diagnóstica** enorme uma vez que é difícil realizar o cultivo dessas bactérias em atmosfera ausente de oxigênio e também porque a obtenção da espécie para análise em laboratório é extremamente trabalhosa haja vista que se houver exposição ao oxigênio ocorrerá perda do microrganismo. Além disso, outros problemas enfrentados no diagnóstico de infecções por anaeróbios estritos é o alto custo para cultivar esse tipo de bactéria e também o fato dessas bactérias apresentarem uma distribuição ubiqüitária no organismo, podendo ser mais prevalentes até mesmo do que anaeróbios facultativos, o que funciona como um fator de confundimento. Enfim, a pesquisa microbiológica vai ser mais importante a partir de sítios estéreis ou a partir da pesquisa das toxinas produzidas pelos anaeróbios obrigatórios.

### Distribuição das bactérias anaeróbias na microbiota normal

Há grande concentração de anaeróbios na microbiota oral e no TGI: para cada uma célula de *E. coli*, há pelo menos 1000 células de anaeróbios, entre esporuladas e não esporuladas, colonizando o intestino. Nesta região, auxiliam na digestão e fornecem nutrientes a partir da quebra de compostos (ex. vitaminas essenciais). A quebra desse equilíbrio entre o organismo e as bactérias pode propiciar infecções.

Na pelve, especialmente na mucosa vaginal, também existem anaeróbios: a vaginite comum envolve este tipo de bactéria que pode até mesmo estar em simbiose com *Trichomonas*. Desse modo, a utilização de Metronidazol que promove a eliminação dos anaeróbios contribui também para por fim no protozoário.

Como as infecções por anaeróbios se caracterizam por relações de simbiose e sinergismo entre os anaeróbios obrigatórios e os anaeróbios facultativos deve-se pensar em ATB que atacam as duas categorias de bactérias.



### Tipos de infecções relacionadas com anaeróbios

Estas infecções estão mais relacionadas com os anaeróbios que formam esporos porque as bactérias não-esporuladas estão mais adaptadas ao organismo humano.

Os anaeróbios estão amplamente distribuídos na natureza (solo, sedimento de rios e oceanos, alimentos, animais) e são prevalentes na cavidade oral e TGI humanos.

Causam:

- Infecção intra-abdominal: abscessos, SSI e peritonites devido à perfuração do intestino.
- Infecção pulmonar: a partir do sangue ou pela aspiração de bactérias do TRS.
- Infecções pélvicas: infecções na vagina ou no útero devido à cirurgia ginecológica ou associadas a câncer. O câncer costuma promover imunossupressão e reação inflamatória que resulta na modificação da anatomia normal do órgão e, em ambas as situações, facilita infecções.
- Abscesso cerebral: os anaeróbios são uma causa comum deste tipo de infecção. Ela advém de bactérias do TRS, da boca e da área subgengival.
- Infecções de pele ou de tecidos moles: na maioria das vezes é polimicrobiana. Normalmente a infecção num sítio mais externo e superficial (por exemplo, a ocasionada por trauma/cirurgia com instrumental contaminado) favorece o estabelecimento de anaeróbios num sítio mais interno.
- Infecção oral ou dental: freqüentemente se estende para a face ou pescoço e até mesmo para o cérebro (abscessos).
- Bacteremia e endocardite: é uma complicação a partir de um foco infeccioso primário (ex. abscesso intestinal ou os outros abscessos já mencionados) de onde realizam disseminação hematogênica.

Os anaeróbios que esporulam constituem um único gênero que será objeto de estudo agora:

### **Clostridium**

- Bacilo Gram-positivo (BGP).
- Formador de esporos.
- Presença ou não de flagelos, dependendo da espécie.
- Mais de 100 espécies reconhecidas, poucas relacionadas com infecções em humanos.
- Encontradas no TGI ou no ambiente.
- Causam três tipos de doença:
  - Não-invasiva: a toxina é responsável pela doença. A subunidade A da toxina é indutora da destruição celular e vai ser internalizada após a interação da subunidade B com o receptor celular. A produção de toxina é uma característica comum entre os anaeróbios. O mesmo mecanismo responsável pela formação de endosporos também conduz à expressão de toxinas: condições desfavoráveis como a diminuição de carbono e o aumento do oxigênio e da temperatura influenciam um receptor que por meio de uma cascata envia sinais ao DNA e leva à expressão de genes relacionados à esporulação/produção de toxinas. Estas toxinas se acumulam no interior das células (não são necessariamente secretadas) e, como as bactérias quando produzem seu endosporo tem seu corpo celular lisado, são liberadas e causam os efeitos deletérios de certas doenças.
  - Invasiva: com destruição tecidual e infecção progressiva.
  - Purulenta: geralmente é mista e ocorre na cavidade peritoneal.

### Espécies patogênicas

#### Clostridium perfringens

- Espécie comumente isolada de espécimes clínicos.
- Presente no solo, água, esgoto, intestino de animais e humanos (compõe microbiota intestinal).
- Presença de 12 toxinas e enzimas (fatores de virulência): a alfa-toxina é uma hemolisina.
- Causa uma grande variedade de infecções: celulites, pneumonia necrotizante, bacteremia, sepse intrabdominal, etc.
- Gangrena gasosa: em traumas pode ocasionar a gangrena gasosa que possui aspecto bolhoso devido à liberação de gases com odor fétido (amônia, sulfídrico). Há uma destruição tecidual elevada, progressiva e em áreas de insuficiente vascularização. Dependendo do local afetado pode levar à morte. O tratamento envolve amputação da parte com gangrena e ATB.
- Principal agente da gangrena gasosa (mionecrose) com 80% de prevalência.
- Destruição muscular mediada por toxina.

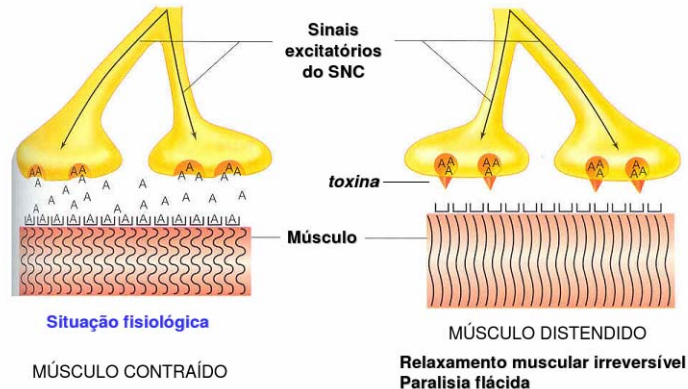


### Clostridium botulinum

O *C. botulinum* é o agente de uma doença muito antiga conhecida como botulismo.

O botulismo baseia-se na ação neurotoxinas que levam à **paralisia flácida**. Existem vários sorotipos de neurotoxinas (A-F) e algumas possuem especificidade com células humanas. Já os sorotipos C e D possuem importância veterinária porque só atacam animais.

**Mecanismo de ação da neurotoxina:** a subunidade B possui especificidade com os receptores pré-sinápticos de ACh na placa motora e após se ligar aos mesmos permite a internalização da subunidade A. Desse modo, como a ACh não é exocitada e não alcança seus receptores, a neurotoxina leva à inibição da contração muscular (o músculo uma vez relaxado, permanece relaxado).



Atenta-se para o fato de que **a toxina não leva à destruição tecidual** e, então, a alta taxa de mortalidade da doença está relacionada à parada respiratória. Desse modo, quanto mais cedo o diagnóstico e socorro do paciente, maiores as chances de reverter o quadro. O tratamento do botulismo também envolve suporte respiratório.

Ressalta-se ainda que nanogramas da toxina botulínica purificada podem ser utilizadas para tirar as rugas de expressão (contração involuntária dos músculos faciais).

As fontes de aquisição da bactéria:

➤ Botulismo alimentar: qualquer tipo de alimento (industrializado ou não) se estiver contaminado pode ser fonte de endosporo e/ou de toxina. A célula bacteriana pode esporular e sobreviver ao processamento de alimentos ou, como a toxina botulínica é termoestável, mesmo o alimento processado com eliminação da viabilidade da célula, pode causar botulismo.

A incidência deste tipo de botulismo é muito baixa porque a principal via de contaminação foi controlada uma vez que a indústria alimentícia evoluiu o mecanismo de enlatamento. Uma lata estufada pode significar que houve produção de gases por anaeróbios, ou seja, que o alimento está contaminado.

➤ Botulismo infantil: relacionado com crianças pequenas (de meses) que são mais vulneráveis e consomem alimentos silvestres (ex. mel).



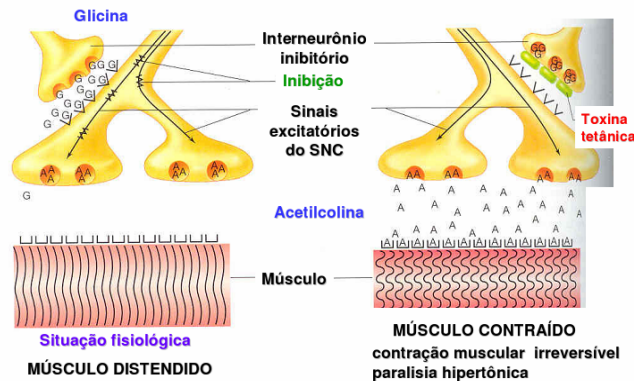
O botulismo pode ser facilmente prevenido por técnicas adequadas de cozimento e conservação dos alimentos.

### Clostridium tetani

Para identificação do *C. tetani* pode ser feita a coloração de Gram, entretanto, algumas soluções melhoram o contraste para visualizar a presença de endosporos. O fato de este endosporo possuir forma de raquete (endósporo terminal) e ser maior do que a célula vegetativa auxilia no fechamento do diagnóstico.

O *C. tetani* produz neurotoxinas que conduzem à **paralisia espástica**, ou seja, que promovem contrações musculares. Assim, as toxinas geram espasmos musculares e dependendo da área afetada pode ocorrer morte do paciente.

**Mecanismo de ação da neurotoxina (tetanospasmina):** a neurotoxina atua sobre os terminais pré-sinápticos dos interneurônios inibitórios que liberam glicina. Ela se liga de forma bastante estável com o receptor pré-sináptico e assim, menos glicina é liberada e menor é a inibição do axônio responsável pela liberação de ACh na placa motora. Desse modo, há maior liberação de ACh e o músculo fica rígido, contraído (paralisia hipertônica).



A toxina pode se acumular e atuar de forma sistêmica. Neste último caso, haverá espasmos de contração que levam à curvatura do indivíduo. Nestas circunstâncias poderá haver estiramento de músculos e quebra de ossos longos (como fêmur).

### **Início e sintomas do tétano**

➤ Dificuldade de deglutição e de fala: os primeiros mm. a serem afetados são os da face, e assim, manifesta-se o sorriso sardônico (*risus sardonicus*).



SOLDADO MORRENDO DE TÉTANO: **OPISTHOTÔNUS**



**Contratura da musculatura facial: trismo e risus sardonicus**

### **Fontes de infecção**

Diferentemente do botulismo, no tétano a contaminação alimentar não possui muita importância.

Os profissionais da área de saúde devem tomar a vacina anti-tetânica.

Há notificação de tétano em recém-nascidos devido ao uso de instrumental contaminado, por exemplo, no corte do coto umbilical.

Assim, pode-se dizer que a inoculação da bactéria ocorre por meio de traumas. Nos locais traumatizados há colonização do patógeno, e, mesmo se a bactéria esporular, as neurotoxinas podem se acumular e cair na corrente sanguínea.

Considerando que a disseminação da toxina e a manifestação do tétano não é tão rápida quanto a que ocorre no botulismo pode-se intervir com a neutralização das toxinas circulantes. Para isto usa-se soro anti-toxina, ou seja, imunoglobulinas que só exercem efeito sobre as toxinas circulantes. Além disso, fornece-se suporte ao paciente a fim de melhorar os espasmos e procede-se com cautela na antibioticoterapia uma vez que ao lisar a bactéria pode-se elevar a concentração de toxinas circulantes.

### Clostridium difficile

O *C. difficile* é considerado por alguns autores como presente na microbiota normal do TGI.

É o agente das diarreias associadas a antimicrobianos, em ambiente hospitalar.

Relaciona-se com pacientes acamados, imunodeprimidos e em uso de ATBS. Estes eliminam os outros microrganismos que controlam a densidade do *C. difficile*.

Este patógeno produz dois tipos de toxinas, causa diarreias e pode levar à colite pseudomembranosa (focos de inflamação ao longo de todo intestino).

Até que ponto o *C. difficile* seria da própria microbiota do indivíduo?

Estudos têm demonstrado que as diarreias e a colite, dentro do ambiente hospitalar, estão relacionadas a uma origem exógena. Ao atingir o intestino, a bactéria encontra condições propícias para se desenvolver e leva a esses quadros. Ou seja, o *C. difficile* é um agente de infecção hospitalar.

### **Bactérias não esporuladas**

Compreendem diversos gêneros, dos mais variados morfotipos celulares: **Bacterioides, Porphyromonas, Prevotella e Fusobacterium.**

São BGN anaeróbios.

### **Bacterioides fragilis**

É o principal constituinte da microbiota normal do Cólon (para cada *E. coli* do intestino existem 1000 bactérias anaeróbias: 600 são *Bacteroides* e 100 são *B. fragilis*) e é encontrado em menor quantidade no Trato Genital. Atualmente tem sido destacado como espécie patogênica, **de natureza endógena**, possuidora de fatores de virulência e causadora de abscessos cerebrais e peritonites. Pertence a um grupo que antigamente tinha 10 espécies de bacterioides (*Bacterioides fragilis*). Hoje, o *Bacterioides fragilis* é uma única espécie com potencial patogênico elevado sobre certas condições. Seu principal fator de virulência é a cápsula polissacarídica que possui variação de fase e pode contribuir para sua disseminação (ex. bacteremia → abscessos cerebrais). A infecção por *B. fragilis* é facilitada pelo sinergismo com bactérias fermentadoras que deixam o ambiente em condições que de suportar o bacterióide.

Algumas cepas produzem uma toxina chamada de fragilisina (enterotoxina). São cepas lisogênicas (ETBF). Estudos demonstram que ETBF tem importância em diarreias no gado e que o ambiente teria papel importante na contaminação oro-fecal.

A fragilisina age sobre a molécula de caderina, que faz parte de complexos juncionais, e se conecta dentro do citoplasma à actina do citosqueleto por meio de outras proteínas. Como essa ligação entre as células é responsável pela conformação da mucosa intestinal, ao clivar a caderina, a flagilisina promove desarranjo das microvilosidades, o que justifica a diarreia.

Em humanos não se observou a relação entre diarreias e ETBF.

**Prevotella e Porphyromonas:** são anaeróbios pigmentados encontrados na cavidade oral.

**Fusobacterium nucleatum:** espécie de *Fusobacterium* mais prevalente em infecções.

É agente de infecções pélvicas e periodontais.

### **Actinomyces e Propionibacterium**

- São BGP anaeróbios.
- Não formam esporos.
- Estão presentes na pele, TRS, gengiva e Trato Urogenital.
- **Actinomyces:** agente da actinomicose cervicofacial. Como esta bactéria é comum na mucosa oral, traumas podem permitir sua internalização. Uma das características que fecham o diagnóstico é o fato de que ao drenar o abscesso observar-se a presença de grânulos de enxofre (amarelo). Deve-se drenar a região e tentar uma antibioticoterapia.
- **Propionibacterium acnes:** agente da acne. Esta ocorre pela quebra do equilíbrio bactéria-hospedeiro. A bactéria encontra-se associada a folículos pilosos e glândulas sebáceas e utiliza lipídeos complexos produzidos e secretados pelas últimas como substrato. Assim, libera ácidos graxos menores que exercem ação antifúngica. Em algumas situações há um aumento da atividade das glândulas sebáceas o que disponibiliza mais lipídeos permitindo o aumento da densidade da bactéria e a elevação da quantidade de ácidos graxos. Tudo isso excita

uma resposta inflamatória local que suprime a atividade das glândulas. Esta bactéria pode-se associar a *Staphylococcus aureus* na formação da acne.

### **Fusobacterium, Porphyromas, Peptoestreptococcus, e Peptococcus**

Estas bactérias estão em estado de equilíbrio na microbiota oral. A quebra desse equilíbrio permite o aparecimento de gengivite e doença periodontal.

Na placa subgengival uma espécie regula positivamente ou negativamente outra (consórcio bacteriano).

Neste consórcio a maioria das bactérias estabelece relação com o *Fusobacterium nucleatum*.

### **Identificação** (parte mais importante)

- Coleta adequada de material deve seguir a regras específicas.
- Qualquer tipo exposição impede pesquisa de anaeróbio.
- O espécime deve ser colocado em um meio de cultura específico: meio pré-reduzido que favorece o metabolismo do anaeróbio. A este meio adiciona-se uma mistura de gases hidrogênio, nitrogênio e gás carbônico, ou somente este último.
- Pode-se realizar hemocultura.
- Pode-se fazer swab: especialmente realizado por cirurgias em cavidades profundas.
- A maioria das feridas exige desbridamento: amputação, escovamento do peritônio, etc.
- Cultivo: em jarra de anaerobiose. Trata-se de uma jarra hermeticamente fechada. Neste recipiente faz-se uso do GasPak: que consome oxigênio e libera gás carbônico. Pode-se utilizar também um catalisador para acelerar esta reação.
- Outra opção é a jarra ter orifícios para permitir a ação das bombas de gases.
- **Cultivo em vela não é para anaeróbios:** este meio facilita o crescimento de bactérias captofilicas (ex. alguns *Streptococcus*), mas não permite a sobrevivência de anaeróbios estritos porque garante somente uma diminuição da tensão de oxigênio. Assim, o meio continua sendo deletério para os anaeróbios obrigatórios.

**ANAERÓBIOS****BACILOS GRAM-POSITIVOS**

Clostridium  
Actinomyces  
Bifidobacterium  
Eubacterium  
Propionibacterium

**BACILOS-GRAM-NEGATIVOS**

Bacterioides  
Fusobacterium  
Prevotella  
Porphyromonas

**COCOS GRAM-POSITIVOS**

Peptococcus  
Peptostreptococcus

**COCOS GRAM-NEGATIVOS**

Veillonella