



RESUMO DE MICROBIOLOGIA

Nyara Mourão – T. XXVII

Resumo

Tipos de Microrganismos
Anatomia funcional das células eucarióticas e procarióticas
Bactérias
Antibióticos
Diagnóstico bacteriano
Microbiologia Clínica

Prof. Ricardo Rocha

Sumário

TIPOS DE MICRORGANISMOS	4
BACTÉRIAS.....	4
ARCHEA	4
FUNGOS.....	4
PROTOZOÁRIOS.....	4
ALGAS.....	5
VÍRUS.....	5
CLASSIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS	5
ANATOMIA FUNCIONAL DE CÉLULAS PROCARIÓTICAS E EUCARIÓTICAS	6
PROCARIOTOS	6
EUCARIOTOS	6
CÉLULA BACTERIANA.....	6
CITOPLASMA	7
MEMBRANA CITOPLASMÁTICA.....	7
Movimento através da membrana	8
PAREDE CELULAR	8
Composição e características.....	9
Bactérias Gram Positivas.....	9
Bactérias Gram Negativas	9
Dano a parede Celular:.....	10
GLICOCÁLICE	11
Flagelo	11
Fímbrias (Pili).....	11
Filamentos axiais.....	12
ENDOSPORO.....	12
METABOLISMO MICROBIANO	13
CRESCIMENTO MICROBIANO.....	13
FATORES NECESSÁRIOS PARA O CRESCIMENTO	13
Temperatura	14
pH	14
Pressão osmótica	14
Fatores químicos	14
RPRODUÇÃO BACTERIANA.....	15
Curva de crescimento bacteriano	15
REPRODUÇÃO BACTERIANA	16
Estrutura do DNA bacteriano.....	16
Transferência genética e recombinação.....	16
Transformação bacteriana	16

Conjugação Bacteriana	17
Transdução Bacteriana.....	18
MICROBIOTA HUMANA.....	19
Relações entre microbiota e hospedeiro	19
Sucessão do microbiana intestinal.....	20
Interferência no equilíbrio da microbiota.....	20
Consequências do desequilíbrio da microbiota	20
PATOGENICIDADE E VIRULÊNCIA	21
Portas de entrada dos patógenos	21
Trato respiratório	22
Trato gastrointestinal.....	22
Trato geniturinário	22
Pele ou via parenteral	22
Portas de saída dos patógenos	22
Fatores de virulência.....	22
Aderência:	22
Cápsula:	23
Componentes de parede celular	23
Enzimas	23
Variação antigênica.....	24
Penetração no citoesqueleto das células do hospedeiro	24
Produção de Toxinas	24
ANTIBIÓTICOS BACTERIANOS	28
MECANISMOS DE AÇÃO	28
Inibição da parede celular (Bactericidas)	28
Inibição síntese de proteína.....	28
Inibição da síntese de ácido nucleico (bactericidas e bacteriostáticos)	29
Danos à Membrana Plasmática (bactericidas).....	29
MECANISMOS DE RESISTÊNCIA BACTERIANA.....	29
Aspectos que contribuem para resistência aos ATB's	30
DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO	32
Métodos de diagnóstico	32
Exame direto e Cultura	32
Testes bioquímicos.....	32
Anticorpos e antígenos	33
DNA e RNA	33
Meios de Cultura	33
Ágar MacConkey:	33
Ágar sangue:.....	33

Ágar chocolate:	34
Ágar Manitol:	34
Provas de identificação	35
Teste de susceptibilidade aos antibióticos	36
MICROBIOLOGIA CLINICA	37
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	37
<i>Neisseria meningitidis</i>	37
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	37
<i>Escherichia coli</i>	37
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	38
<i>Streptococcus pyogenes</i>	38
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	39
<i>Staphylococcus aureus</i>	39
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	39
<i>Bacteroides fragilis</i>	40
<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	40
<i>Clostridium difficile</i>	41

TIPOS DE MICRORGANISMOS

BACTÉRIAS

- Procariontes: Material genético **não envolto** por membrana
- Unicelulares
- Formas: bacilos, cocos, espirilos, forma estrelada, quadrada, etc.
- Parede celular: complexo de carboidrato e proteínas -> **Peptidoglicano**
- Reprodução: fissão binária
- Nutrição: compostos orgânicos encontrados na natureza, derivados de organismos vivos ou mortos.
(*algumas bactérias se alimentam de compostos inorgânicos ou fotossíntese*)
- Bactérias podem conter flagelos que permitem o movimento.

ARCHAEA

- Células procarióticas
- Podem apresentar ou não parede celular, quando presentes não possuem peptidoglicano
- Não causam doenças em seres humanos
- Geralmente encontradas em ambientes extremos e se dividem em 3 grupos:
 - Metanogênicas: produzem metano como produto residual da respiração
 - Halófilas extremas: vivem em ambientes extremamente salgados
 - Termófilas extremas: vivem em águas quentes sulfurosas

FUNGOS

- Eucariotos
- Estrutura celular complexa
- Núcleo definido com material genético envolto por uma membrana nuclear
- Unicelulares ou multicelulares
- Parede celular de quitina
- Reprodução sexuada ou assexuada
- Nutrição: Absorção de matéria orgânica do meio ambiente, que pode ser o solo, a água, um animal ou planta do hospedeiro.

PROTOZOÁRIOS

- Micróbios unicelulares
- Eucariontes

- Se movimentam através de cílios, flagelos ou pseudópodes
- Vivem como parasitas ou de vida livre
- Nutrição: absorção ou ingestão de compostos orgânicos do ambiente, alguns podendo ser fotossintéticos
- Reprodução sexuada ou assexuada

ALGAS

- Eucariotos
- Fotossintéticos
- Reprodução sexuada e assexuada
- Unicelulares ou pluricelulares, sendo as de interesse humano: unicelulares
- Parece celular composta por celulose

VÍRUS

- Acelulares
- Núcleo com envoltório protéico formado por DNA o RNA
- Se reproduzem utilizando a maquinaria celular de outro indivíduo

CLASSIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS

1. Bacteria (as paredes celulares contêm um complexo carboidrato- proteína chamado de peptideoglicano).
2. Archaea (as paredes celulares, se presentes, não possuem peptideoglicano).
3. Eukarya, que inclui os seguintes grupos:
 - Protista (fungos gelatinosos, protozoários e algas).
 - Fungi (leveduras unicelulares, bolores multicelulares e cogumelos).
 - Plantae (que inclui musgos, samambaias, coníferas e plantas com flores).
 - Animalia (que inclui esponjas, vermes, insetos e vertebrados).

ANATOMIA FUNCIONAL DE CÉLULAS PROCARIÓTICAS E EUCARIÓTICAS

- Procariotos e eucariotos são quimicamente similares, ambos contêm ácidos nucleicos, proteínas, lipídeos e carboidratos, além de utilizarem as mesmas reações químicas para metabolizar alimentos
- DIFERE principalmente: Estrutura da parede celular e membranas, e ausência de organelas.

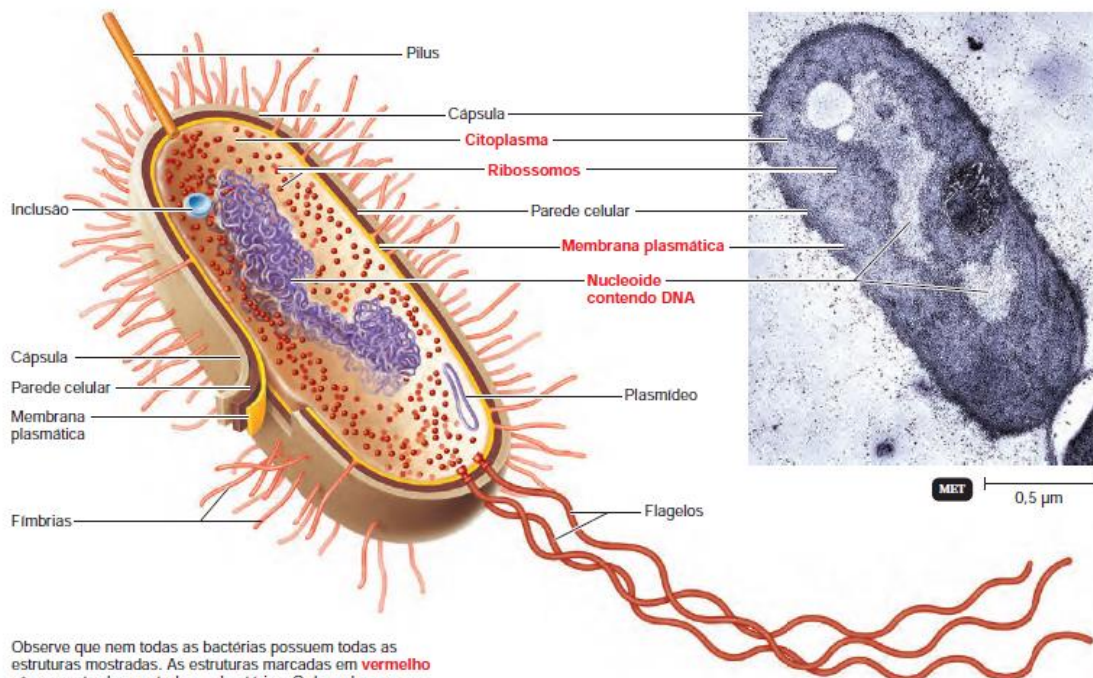
PROCARIOTOS

- DNA circular NÃO envolto por membrana e NÃO associado a histonas
- Organelas NÃO revestidas por membranas
- Parede celular geralmente composta por peptidoglicano
- Se dividem por fissão binária

EUCARIOTOS

- DNA no núcleo, separado do citoplasma por membrana nuclear e cromossomos múltiplos
- DNA associado a Histona
- Organelas revestidas por membranas
- Parede celular quimicamente simples
- Divisão celular por mitose

CÉLULA BACTERIANA



Observe que nem todas as bactérias possuem todas as estruturas mostradas. As estruturas marcadas em **vermelho** são encontradas em todas as bactérias. O desenho e a micrografia mostram a bactéria seccionada transversalmente para revelar a composição interna.

Conceito-chave

As células procarióticas não possuem organelas envolvidas por membrana. Todas as bactérias possuem citoplasmas, ribossomos, uma membrana plasmática e um nucleóide. A maioria das bactérias possui paredes celulares.

- Formada por:

- Citoplasma (nucleóide contendo DNA; ribossomos)
- Membrana Plasmática
- Parede Celular
- Glicocálice
- Fímbrias – pili - Filamentos axiais – Flagelos

CITOPLASMA

- DNA cromossomal

- Cromossomo bacteriano único de dupla fita circular, região denominada **NUCLEOIDE** -> Sem envoltório nuclear e disperso no citoplasma.

- **Plasmídeo:** Pequena molécula de DNA de fita dupla circular, são **elementos genéticos extracromossômicos**, isto é, elas não estão conectadas ao cromossomo bacteriano principal e se replicam independentemente do DNA cromossômico

- 5 a 100 genes não
- **Fornece resistência a antibióticos**
- Tolerância a metais tóxicos
- Síntese de enzimas

- Ribossomos

- Locais de síntese proteica
- Aspecto granular ao citoplasma
- Denominado de ribossomos 70s
- *Vários antibióticos inibem a síntese proteica nos ribossomos bacterianos (Eritromicina e cloranfenicol)*

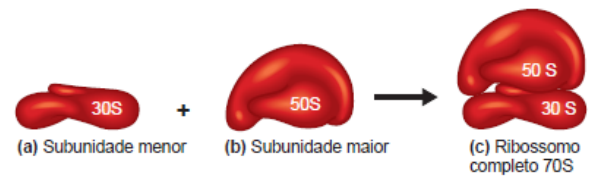
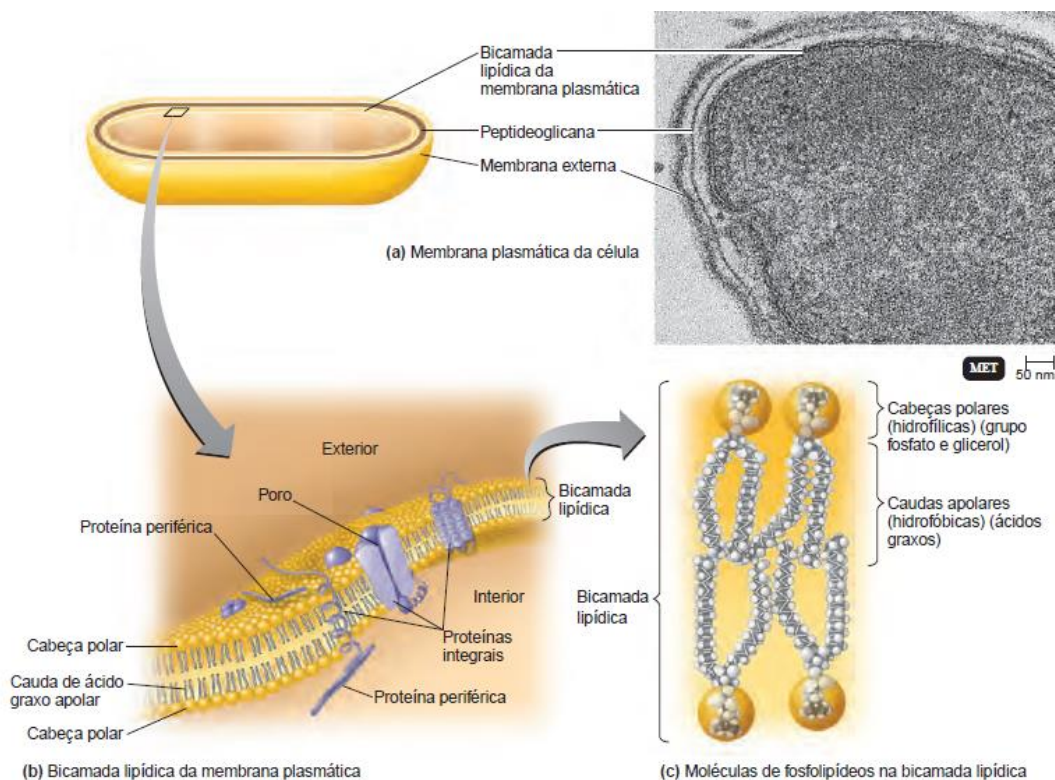


Figura 4.19 O ribossomo procariótico. (a) Uma subunidade menor 30S e (b) uma subunidade maior 50S compõem (c) o ribossomo procariótico completo 70S.

- **Inclusões:** Depósito de **reservas de nutrientes** (proteínas, atp, lipídeos)

MEMBRANA CITOPLASMÁTICA

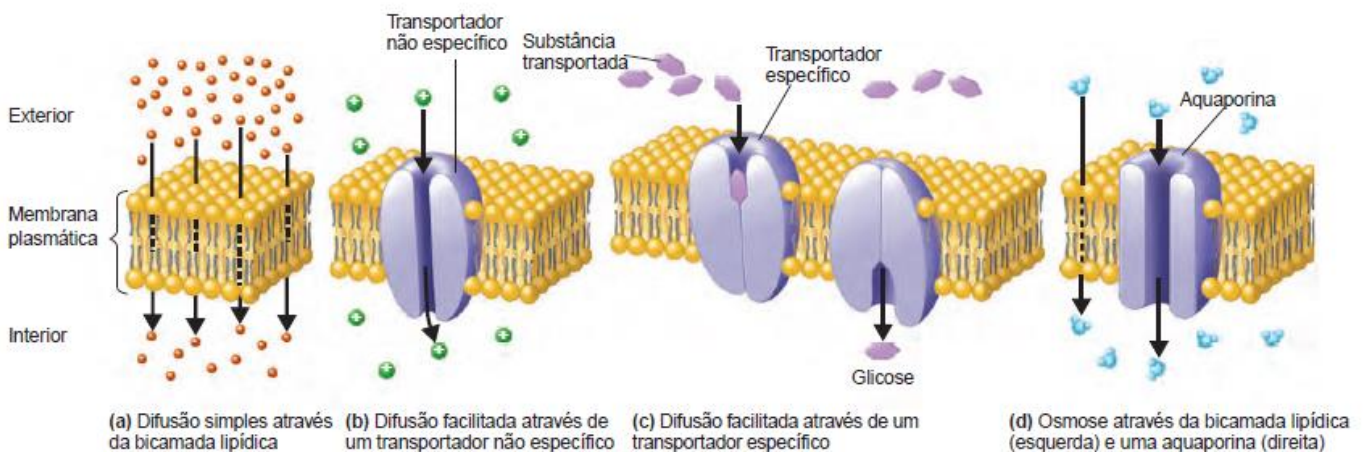


- **Barreira Seletiva (Permeabilidade seletiva)**

- Entrada e liberação de substâncias (água, íons, proteínas, vitaminas, aminoácidos lipídios)
- Estrutura fina e entre o citoplasma e parede celular
- Formada principalmente por **fosfolipídios e proteínas** (menor rigidez)
- As moléculas de Fosfolipídeos estão distribuídas em duas linhas paralelas, denominadas bicamada lipídica
- Proteínas:
 - **PERIFÉRICAS:** Estão na superfície interna ou externa, e tem a função de catalisar reações químicas e como mediadoras das alterações na forma da membrana durante o movimento -> *São facilmente removidas*
 - **INTEGRAIS OU TRANSMEMBRANAS:** Penetra na membrana completamente, podem atuar como canais de entrada e saída de substâncias da célula. -> *Só podem ser removidas após rompimento da membrana*
- As proteínas e alguns lipídeos da membrana, podem ter carboidratos ligados -> **Glicoproteínas e glicolipídios**
- **Antibiótico polimixinas** -> *ataca a membrana plasmática, levando a morte celular*

Movimento através da membrana

- Processos:
 - **PASSIVO:** Substâncias vão da área de alta concentração para baixa concentração, sem gasto de energia -> *A favor do gradiente*
 - ✓ Difusão simples, difusão facilitada e osmose
 - ✓ Osmose: Movimento do solvente (geralmente água), do meio de baixa concentração de soluto para o meio com alta concentração de soluto.
Pressão osmótica = é a pressão necessária para interromper o fluxo de água através da membrana seletivamente permeável (celofane).
 - **ATIVO:** Usam energia (ATP) para substâncias irem da área de baixa concentração para alta concentração -> *Contra o gradiente*



PAREDE CELULAR

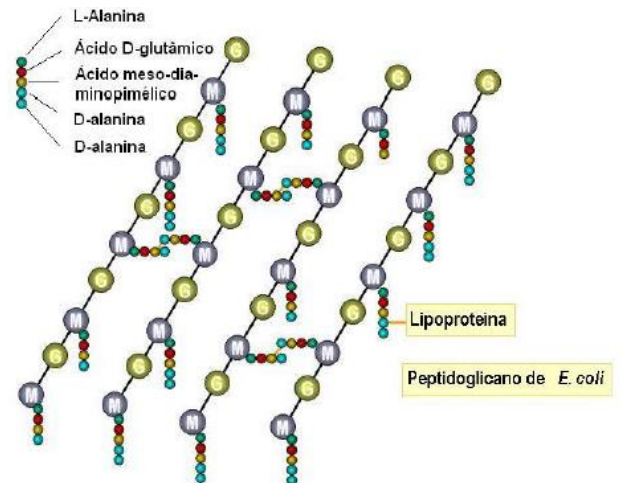
- Estrutura complexa e rígida
- Responsável pela forma da célula e proteção da membrana
- Previne a ruptura de células bacterianas
- Ponto de ancoragem para flagelos

- Clinicamente, contribui na capacidade de causarem doenças e como local de ações de alguns antibióticos

Composição e características

- Camada de peptidoglicana (ou mureína), polímero de açúcares e aminoácidos -> Formando uma rede
- Constituída de N-acetilglicosamina (NAM) e ácido N-acetilmurâmico (NAG), relacionados à glicose
- Moléculas alternadas de NAM e NAG ligadas em filas de açúcares, formando um “exoesqueleto”

- *Penicilina interfere nas ligações cruzadas, resultando na lise*

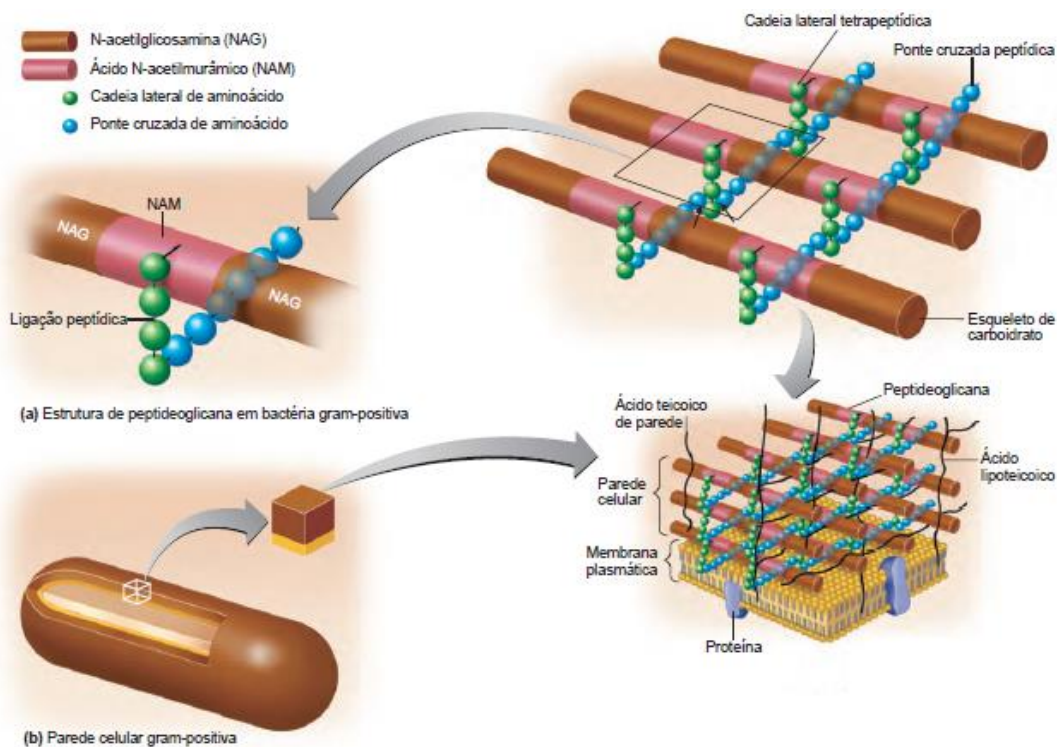


Bactérias Gram Positivas

- Muitas camadas de **peptidoglicana** (estrutura espessa e rígida)

- **Ácidos teicócos** (álcool+fosfato)

- Regulam os movimentos de cátions (devido sua carga negativa)
- Crescimento celular (impedindo a ruptura da parede) - Regulação Autolisinas
- Sítio de ligação ao epitélio (bactérias patogênicas- *S. pyogenes*)
- Fornecem especificidade antigênica da parede (identific. Sorológica)

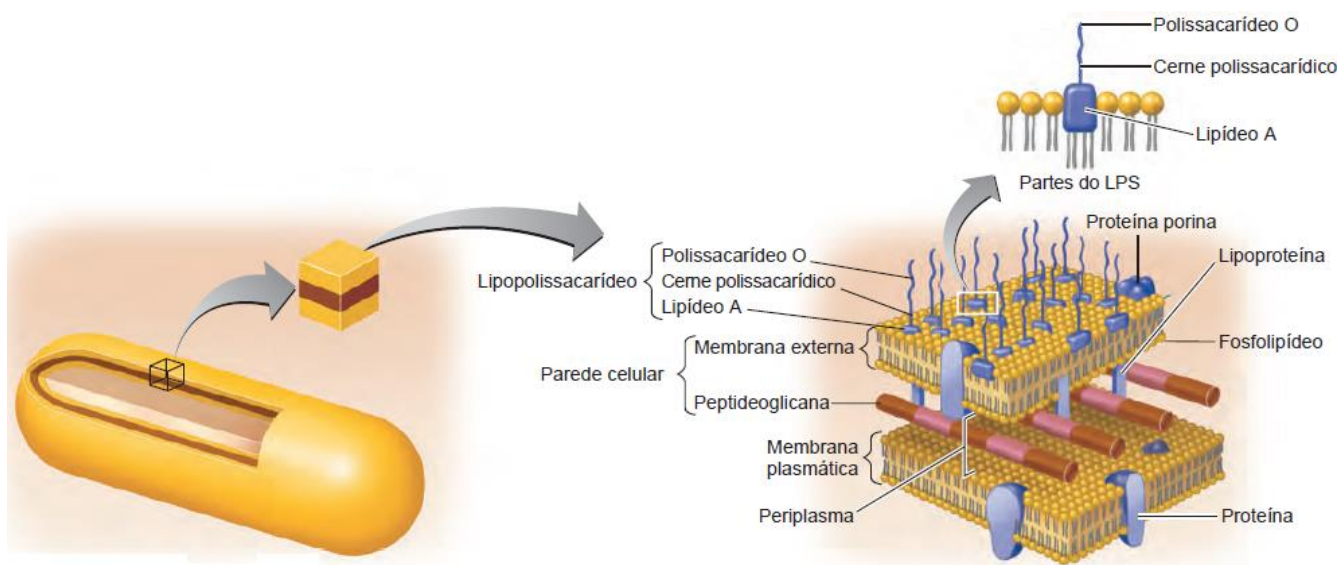


Bactérias Gram Negativas

- Camada fina de **peptidoglicana** + Membrana externa

- Ligada a lipoproteínas na membrana externa (com muitas porinas)

- Não contém ácidos teicoicos
- Mais suscetíveis ao rompimento mecânico
- Periplasma, um fluido semelhante a um gel, entre a membrana externa e a membrana plasmática
- Membrana externa:
 - Lipopolissacarídeos (integridade estrutural, proteção contra ataques químicos e funciona como endotoxina)
 - Lipoproteínas (adesão da peptidoglicana)
 - Fosfolipídeos
 - Impede a entrada de Antibióticos, detergentes e enzimas digestivas
 - Forte carga negativa e um fator importante na evasão da fagocitose e nas ações do complemento
 - Quando bactérias gram-negativas morrem, elas liberam **lipídeo A**, que funciona como uma endotoxina. O lipídeo A é responsável pelos sintomas associados a bactérias gram-negativas, como febre, dilatação de vasos venosos, choque e formação de coágulos sanguíneos



Dano a parede Celular:

- Lisozima -> Danifica parede celular
- Penicilinas
 - **Bactérias Gram-Positivas**
 - Vulneráveis a lise em contato com a lisozima, que destrói quase por completo a parede celular
 - O conteúdo celular que permanece circundado pela membrana plasmática pode ficar intacto se a lise não ocorrer; essa célula sem parede é denominada **PROTOBLASTO -> Esférico e realiza metabolismo.**
 - Outras células que perderam a parede celular e possuem formato irregular podem ser chamados de **FORMAS L**
 - **Bactérias Gram-Negativas**
 - Perdem parcialmente a parede celular, parte da membrana externa também permanece
 - O conteúdo celular, a membrana plasmática e a camada restante da parede externa são denominados **ESFEROPLASTO**, também uma estrutura esférica.

GLICOCÁLICE

- Substâncias que envolvem a célula
- Nas bactérias é um polímero viscoso e gelatinoso externamente a parede celular
- Composto por **polissacarídeo, polipeptídeo** ou ambos
- Se estiver fortemente aderido à parede células -> **CÁPSULA**

(Essa cápsula contribui para a virulência, uma vez que protege as bactérias patogênicas da fagocitose por células hospedeiras (falta receptor) -> **Fornece resistência**)

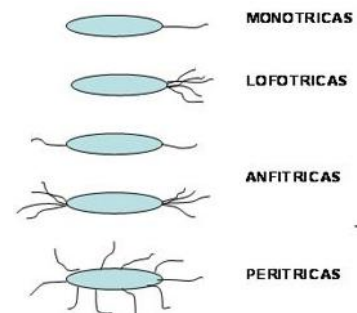
(Ex: *Streptococcus pneumoniae* -> Só causam pneumonia quando estão revestidas pela cápsula)

- Se estiver fracamente aderido -> **CAMADA VISCOSA**
- Pode **ajudar a bactéria se fixar no ambiente** alvo (Substância polimérica extracelular)
- (*Streptococcus mutans* -> causa cárie, se fixa nos dentes pelo glicocálice)
- Proteção contra desidratação
- Permite aderência e formação dos Biofilmes (comunidades estruturadas, coordenadas e funcionais de bactérias)

Flagelo

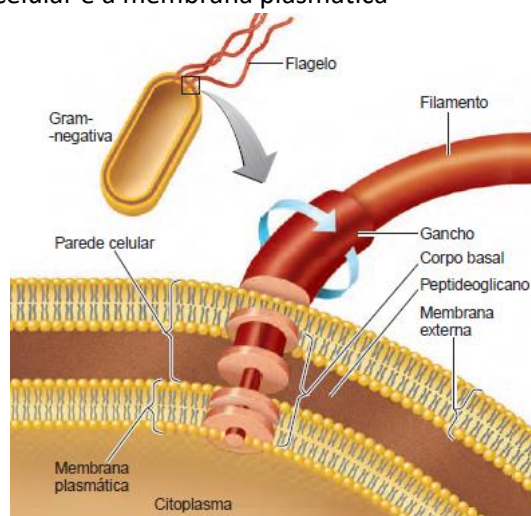
- Apêndices filamentosos que propõem as bactérias -> **LOCOMOÇÃO**

- **Bactérias Atríqueas** – sem flagelos (em formato de cocos)
- **Flagelos Peritríqueos** – distribuídos em toda a células
- **Flagelos Polares** – em um ou ambos os polos da células
 - Monotríqueos (um único flagelo em um polo)
 - Lofotríqueos (tufo de flagelos na extremidade)
 - Anfitríqueos (flagelos em ambas as extremidades)



- Composto por 3 partes:

- **Filamento** (proteína flagelina)
- **Gancho**
- **Corpo Basal** - ancora à parede celular e à membrana plasmática



Fímbrias (Pili)

- Presentes em algumas Gram-negativas
- Semelhante a pelos (proteína pilina)
- **Adesão** a outras bactérias ou hospedeiro -> Fator de adesão (*adesinas*)

- **Transferência de DNA** (Pili F) – Pili sexual (conjugação bacteriana)

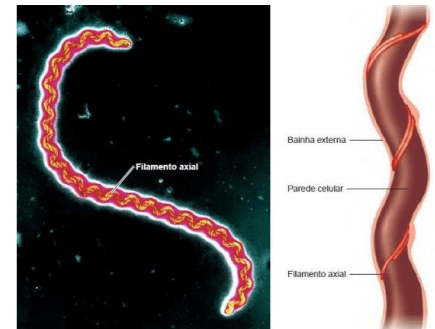
(Bactéria Neisseria gonorrhoeae, o agente causador da gonorreia, as fimbrias auxiliam o micróbio a fixar e colonizar as membranas mucosas)

- Os **PILI** normalmente são mais longos que as fimbrias, e há apenas um ou dois por célula. Os pili estão envolvidos na mobilidade celular e **na transferência de DNA**.

Filamentos axiais

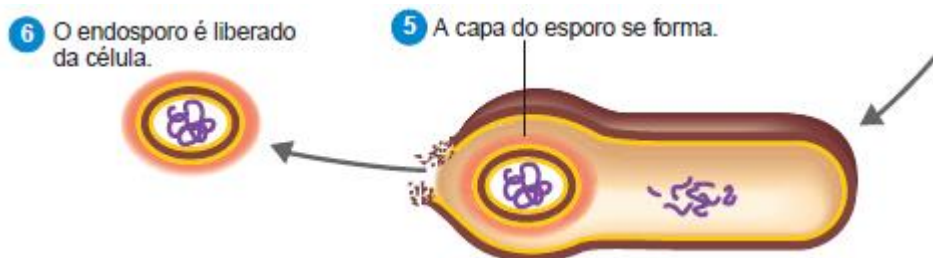
- Chamados de endoflagelos
- Estrutura e mobilidade exclusivas das espiroquetas
- Feixes de fibrilas que fazem um espiral em torno da célula

(Uma das espiroquetas mais conhecidas é o Treponema pallidum, o agente causador da sífilis)



ENDOSPORO

- Quando os nutrientes essenciais se esgotam, bactérias gram-positivas formam uma **célula especializada de repouso**, chamada **ENDOSPORO**.
- Células desidratadas altamente duráveis, com parede espessa e camadas adicionais, formadas dentro da membrana celular e liberadas -> **Esporogênese**
- Ao serem liberados no ambiente, podem sobreviver a condições extremas
- Um endosporo retorna ao seu estado vegetativo por um processo denominado germinação. A germinação é ativada por uma lesão física ou química no revestimento do endosporo. Então, as enzimas do endosporo rompem as camadas extras que o circundam, a água entra, e o metabolismo recomeça.



METABOLISMO MICROBIANO

- Classificação dos microrganismos quanto a fonte de energia.

- **Fototróficos:** Luz como fonte primária de energia
- **Quimiotróficos:** Dependem das reações de oxidação-redução de compostos inorgânicos ou orgânicos para energia.

- Fonte principal de carbono:

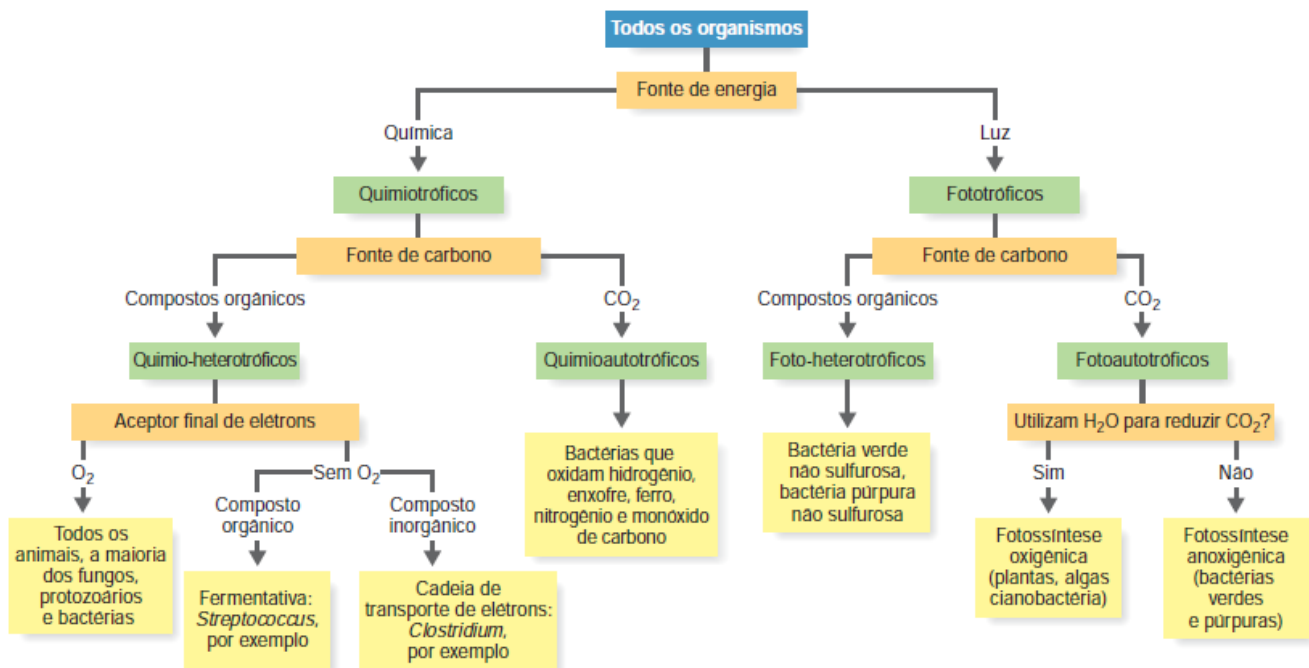
- **Autótrofos:** utilizam o dióxido de carbono CO₂
- **Heterótrofos:** Requerem uma fonte de carbono orgânica

- Combinando a fonte de energia e carbono:

- Foto-heterótrofico
- Foto-autótrofico
- **Químio-heterotrófico:** Maioria dos microrganismos de importância médica
- Químio-autotrófico

- Respiração

- Aeróbica (O₂)
- Anaeróbica (inorgânicos)
- Fermentação (independente de O₂)



CRESCIMENTO MICROBIANO

- Corresponde ao **aumento do número de indivíduos** e **não** ao aumento (tamanho) de uma determinada célula.

FATORES NECESSÁRIOS PARA O CRESCIMENTO

- **Físicos:** temperatura, pH, pressão osmótica

- **Químicos:** Fontes de carbono, nitrogênio, enxofre, fósforo, oxigênio, elementos traços e fatores orgânicos de crescimento

Temperatura

- A maioria dos microrganismos crescem bem as temperaturas ideais para os seres humanos;
- Algumas bactérias crescem em extremos de temperaturas

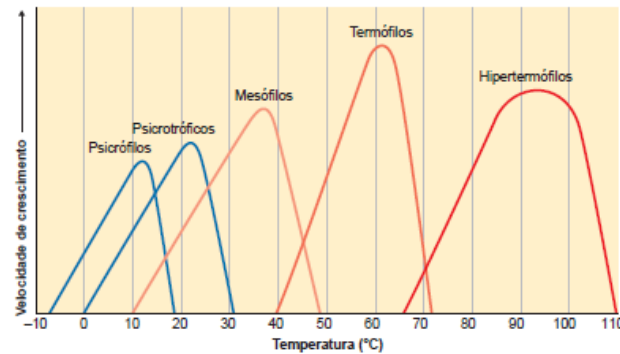
- **Temperatura ótima de crescimento:** temperatura na qual a espécie cresce melhor (tempo de geração mais curto)

- **Temperaturas mínimas e máximas de crescimento:** menores e a maiores temperaturas que permitem a divisão celular

- A temperatura ótima para o crescimento está mais próxima da máxima do que da mínima.

- Grupos de acordo com a temperatura de crescimento:

- **Psicrófilos** (crescem em baixas temperaturas) – -10° a 20°C
- **Psicrotrófilos** (crescem em baixas temperaturas) – 0° a 30°C
- **Mesófilos** (crescem em temperaturas moderadas)– 25° a 40°C
- **Termófilos** (crescem em altas temperaturas)– 50° a 80°C
- **Hipertermófilos** (crescem em altas temperaturas) – 65° a 110°C



pH

- A maioria das bactérias crescem em uma faixa estreita de pH perto da neutralidade;

- Poucas bactérias crescem em um pH abaixo de 4.

- Grupos de acordo com o pH de crescimento

- **Bactérias Acidófilas** (0,1 a 5,4 - resistentes à acidez)
- **Bactérias Neutrófilas** (5,4 a 8,5)
- **Bactérias Alcalinófilas** (8,5 a 11,5 – resistentes à alcalinidade)

Pressão osmótica

- Os micro-organismos obtém a maioria dos seus nutrientes da água presente no seu meio ambiente. Portanto, eles requerem água para seu crescimento, sendo que sua composição é de 80 a 90% de água.

- **Plasmólise** -> perda de água da célula para um meio com > concentração de soluto (ambiente hipertônico, alta pressão osmótica)

Na plasmólise há o encolhimento do citoplasma celular, o crescimento celular é inibido.

- **Lise celular** -> entrada de água de um meio com < concentração de soluto (ambiente hipotônico e baixa pressão osmótica)

Fatores químicos

Essencial para a formação da estrutura das bactérias

- **Carbono:** Um dos fatores mais importantes para o crescimento, é o esqueleto estrutural da matéria viva.
- **Nitrogênio:** constituinte das proteínas, ácidos nucleicos, dentre outros;
- **Enxofre:** constituinte das proteínas, aminoácidos e vitaminas;
- **Fósforo:** constituinte dos ácidos nucleicos e fosfolípidos, sínteses de vitaminas.
- **Elementos traço:** ferro, cobre, molibdênio, zinco. Requerem quantidades muito pequenas, porém pode ser importante para função de enzimas catalisador
- **Oxigênio:** As bactérias podem ser:
 - **Aeróbios obrigatórios** (O_2 para viver)
 - **Aeróbios facultativos** (crescem na presença ou ausência de O_2)
 - **Anaeróbios obrigatórios** (incapazes de utilizar o oxigênio molecular)
 - **Anaeróbios aero tolerantes** (não utilizam O_2 para o crescimento, mas o toleram)

- Microaerofilas (crescem somente em concentrações de oxigênio inferiores às do ar)
- **Água:** Essencial para os microrganismos. Em ambientes com elevada disponibilidade -> *Desenvolvem mecanismos para obter água através do aumento da concentração de solutos internos seja pelo bombeamento de íons para o interior celular ou pela síntese de solutos orgânicos (açúcares, álcoois ou aminoácidos)*

RPRODUÇÃO BACTERIANA

- **Fissão binária** -> Célula parental mãe se divide em células filhas idênticas

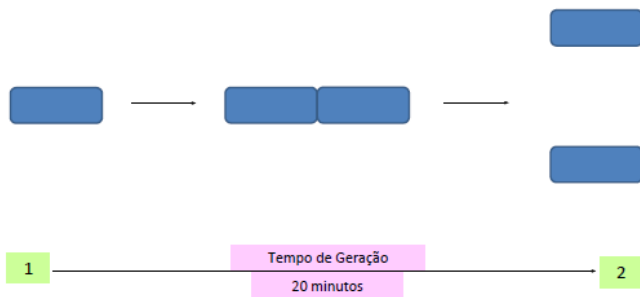
- Bactérias tem tempos de divisão diferentes -> Cultura de bactéria permite analisar esse crescimento, que se dá em fases

- Tempo de geração: Tempo necessário para uma célula se dividir (e sua **população duplicar**)

- Varia entre os organismos e com as condições ambientais
- A maioria, de 1 a 3 horas

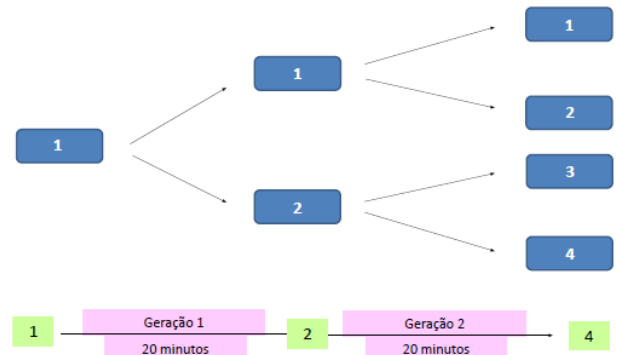
Ex. *Escherichia coli*

- Tempo de geração: 20 minutos



Ex. *Escherichia coli*

- Tempo de geração: 20 minutos



Curva de crescimento bacteriano

- Mostra o crescimento das células em função do tempo

- 4 Fases básicas de crescimento:

1) Fase Lag:

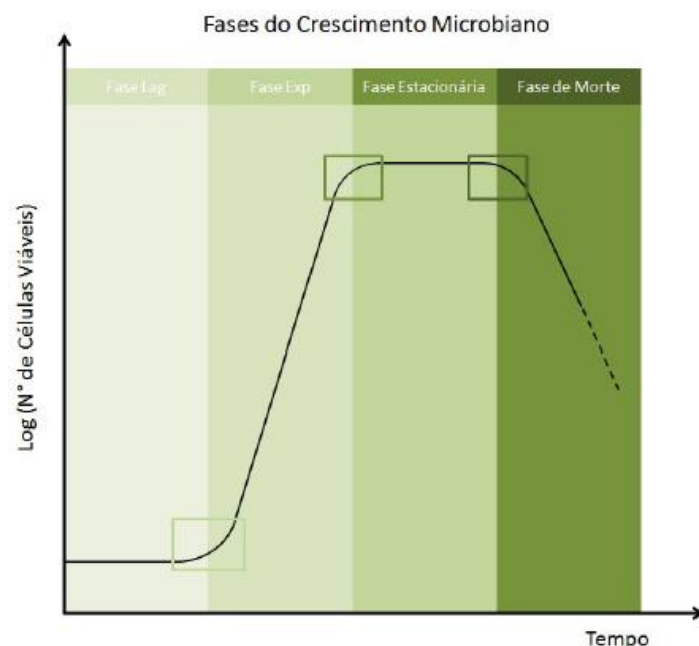
- Período de **pouca ou nenhuma divisão**
- De 1 hora a vários dias
- Células não estão dormentes
- Período de **intensa atividade metabólica**

2) Fase Log

- Células **começam a se dividir**
- Ativa reprodução celular
- Valor do tempo de geração constante
- Momento de **maior atividade metabólica**

3) Fase estacionária

- **Redução na velocidade de reprodução**
- Número de **mortes microbianas = número de células novas**
- **Estabilização** da população
- Fatores favorecem a parada do crescimento:
Esgotamento de nutrientes, acúmulo de resíduos e mudanças de pH danosas à célula.



4) Fase de morte celular

- Número de **mortes ultrapassa o número de células novas**
- Fase continua até que permaneça uma pequena fração da fase anterior ou ocorra totalmente a morte

REPRODUÇÃO BACTERIANA

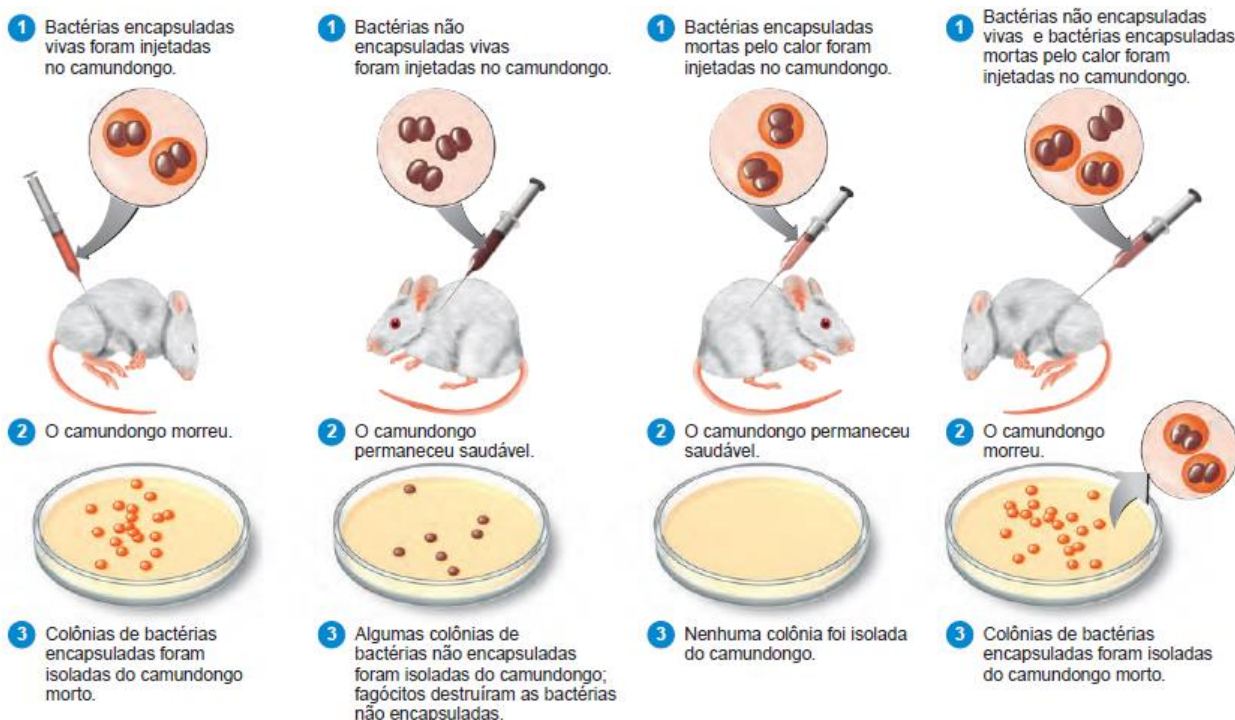
Estrutura do DNA bacteriano

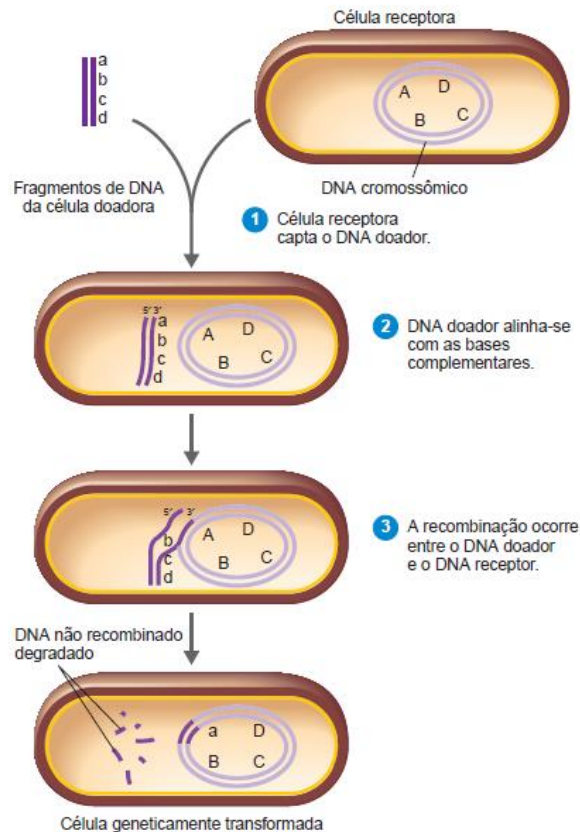
- Genes compostos de DNA dispostos em uma longa série em um cromossomo;
- Molécula única de DNA bi filamentar em forma de fita circular;
- Plasmídeos – elementos extras de DNA, circulares, menores que o genoma principal
- A replicação do DNA possibilita o fluxo de informação genética de uma geração para a seguinte.
- **MUTAÇÕES**: Pode ser benéfica ou maléfica, o mais comum é a substituição de bases nitrogenadas, e confere resistências a antibióticos.
 - Causas: Raios UV, medicamentos, poluentes, cigarro.

Transferência genética e recombinação

Transformação bacteriana

- Processo onde há a captação de um fragmento de DNA **do meio externo e incorporação desse DNA a seus próprio cromossomo**.
- Genes da bactéria doadora são liberados no meio, após a lise, e transferidos para outra bactéria (receptora).
- Experimento inicial → Frederick Griffith, em 1928.; e McCarty, 1944.





Conjugação Bacteriana

- Transferência de material genético mediado por um tipo de plasmídeo → um fragmento circular de DNA que se replica de modo independente do cromossomo da célula.

- Difere da transformação em:

- A conjugação requer o contato direto célula a célula.
- As células em conjugação geralmente devem ser de tipos opostos de acasalamento; as células doadoras devem transportar o plasmídeo, e as células receptoras normalmente não.

- Em Gram-Negativas há genes para o Pili sexual → projeções da superfície da célula doadora que entram em contato com a receptora e auxiliam a unir as duas células em contato direto.

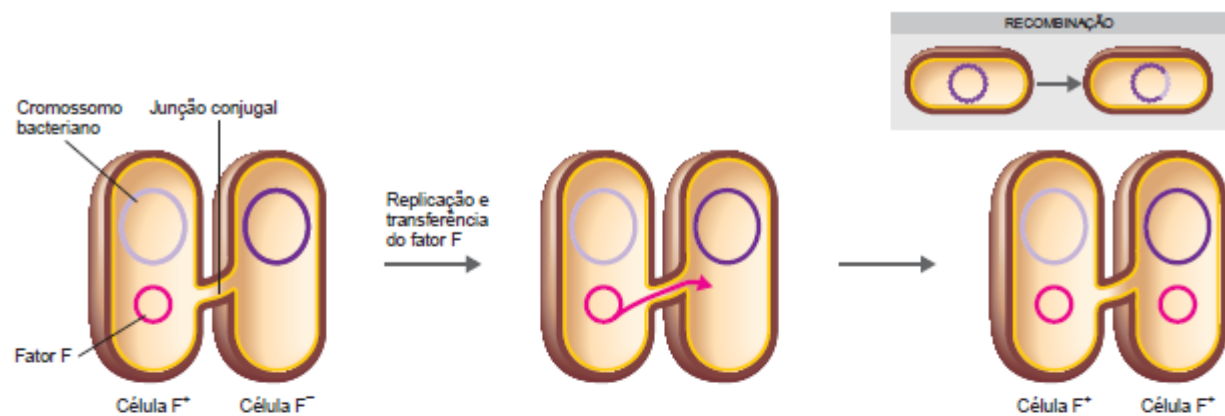
- Já as Gram-Positivas produzem moléculas aderentes de superfície.

- No processo de conjugação, o plasmídeo é replicado durante a transferência de uma cópia do filamento simples do DNA do plasmídeo para o receptor, onde o filamento complementar é sintetizado.

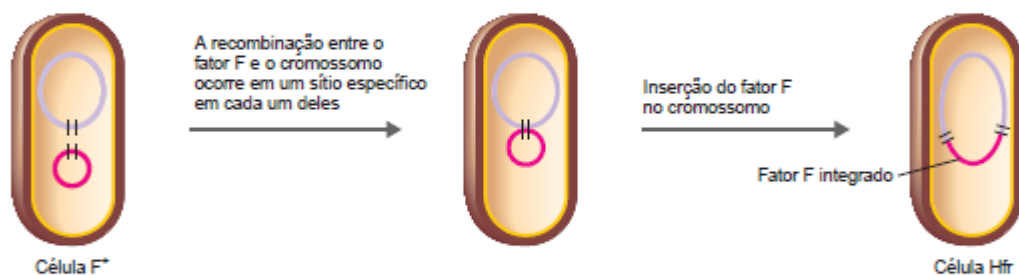
- Doador transportam o Fator F+, que transferem o DNA aos receptores Células F-.

- Em algumas células transportando fatores F, o fator se integra ao cromossomo, convertendo a célula F+ em uma célula HFr (alta frequência de recombinação). –

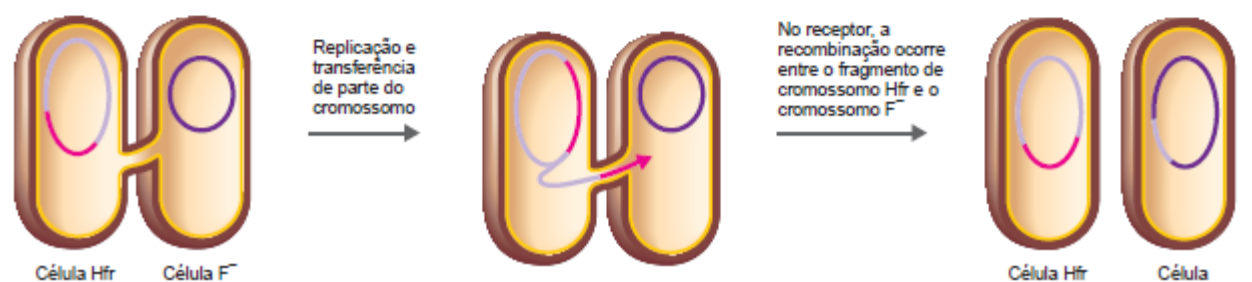
- HFr x F- → cromossomo do Hfr se replica, e uma fita parental do cromossomo é transferida para a célula receptora. Uma vez dentro do receptor, o DNA pode se recombinar, ocasionando novas versões de genes cromossômicos. Contudo, continua uma célula F-, pois não recebe o fator F completo.



(a) Quando um fator F (um plasmídeo) é transferido de um doador (F^+) para um receptor (F^-), a célula F^- é convertida em uma célula F^+ .



(b) Quando um fator F torna-se integrado no cromossomo de uma célula F^+ , transforma-a em uma célula de alta frequência de recombinação (Hfr).



(c) Quando um doador Hfr passa uma porção do seu cromossomo para um receptor F^- , o resultado é uma célula recombinante F^- .

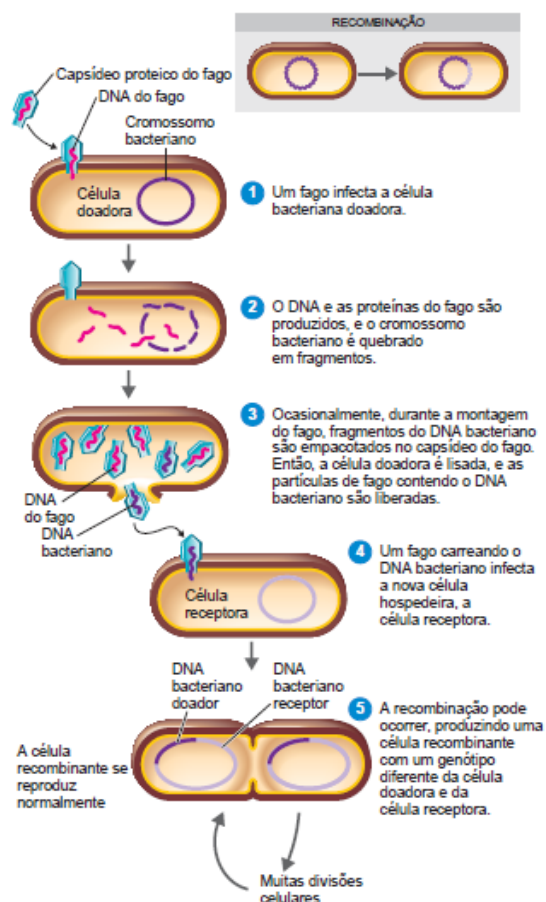
Transdução Bacteriana

- Nesse processo, o DNA bacteriano é transferido de uma célula **doadora para uma célula receptora dentro de um vírus que infecta bactérias**, denominado bacteriófago, ou fago. → transdução generalizada.

- Durante a reprodução do fago, o DNA e proteínas são sintetizados na célula bacteriana hospedeira.

- DNA fago → dentro de um capsídeo proteico.

- Transdução especializada → Onde somente genes específicos são transferidos.

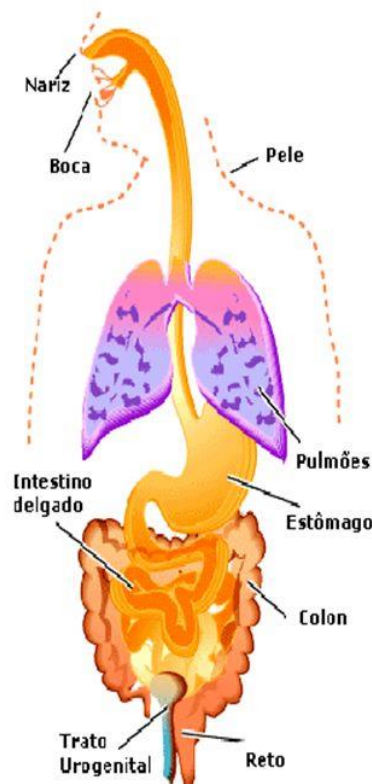


MICROBIOTA HUMANA

- Refere-se à população de microrganismos que **habita a pele e as mucosas**, em sadios.
- Microrganismos ubíquos (*em todo lugar*) – os ecossistemas são colonizados por uma ampla e diversa microbiota, formada **principalmente por bactérias e fungos**.
- O número de células do nosso corpo é em torno de 10 trilhões. O número de células microbianas em nosso corpo é 10^{14} . A biomassa bacteriana no intestino humano pesa em torno de 1,2Kg (40-50% do peso fecal).
- Fornecem **a primeira linha de defesa** -> atuam na **degradação de toxinas e na maturação do sistema imune**.
- Os microrganismos que habitam o corpo humano podem ser divididos em dois grupos:
 - **Microbiota residente:** Fixos, **encontrados com regularidade** em determinadas áreas e em certa idade e **não produzem doenças em condições normais**.
 - **Função:** Barreira contra instalação de microrganismos patogênicos, produção de substâncias utilizável pelo hospedeiro, degradação de substâncias tóxicas, modulação do sistema imunológico.
 - **Microbiota transitória:** **não patogênicos ou potencialmente patogênicos**, os quais permanecem na pele ou nas mucosas **por horas, dias ou semanas, vindos do meio ambiente**, não causando doença e nem se estabelecendo permanentemente na superfície. (*não patogênico, à princípio; se a residente for perturbada, os transitórios podem causar doenças*).
- **Caráter Anfibiótico:** Microrganismos podem se comportar como **patógenos oportunistas, em situações de desequilíbrio** ou a serem **introduzidos em sítios não específicos**. (*Exemplo: E. coli inofensivo no intestino e ofensivo no trato urinário*)

Exemplos de microrganismos da flora normal humana

Pele	Olhos	Cavidade oral
<i>Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>Micrococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Neisseria</i>
<i>Propionibacterium</i>	<i>Neisseria</i>	<i>Streptococcus</i>
<i>Corynebacterium</i>		<i>Fusobacterium</i>
<i>Streptococcus</i>		<i>Actinomyces</i>
<i>Malassezia</i>		<i>Treponema</i>
<i>Pityrosporum</i>		<i>Bacteroides</i>
Trato respiratório	Trato Digestivo	Trato Urogenital
<i>Staphylococcus</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>Streptococcus</i>
<i>Corynebacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Bacteroides</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Mycobacterium</i>
<i>Hemophilus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Neisseria</i>
<i>Neisseria</i>	<i>Proteus</i>	<i>Enterobacter</i>
<i>Branhamella</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Clostridium</i>
	<i>Enterobacter</i>	<i>Lactobacillus</i>
	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Candida</i>
	<i>Citrobacter</i>	<i>Trichomonas</i>
Ouvido		
<i>Staphylococcus</i>	<i>Fusobacterium</i>	
<i>Corynebacterium</i>	<i>spirochetes</i>	



Relações entre microbiota e hospedeiro

- **SIMBIOSE** - Relação entre dois organismos na qual, pelo menos um, é dependente do outro.

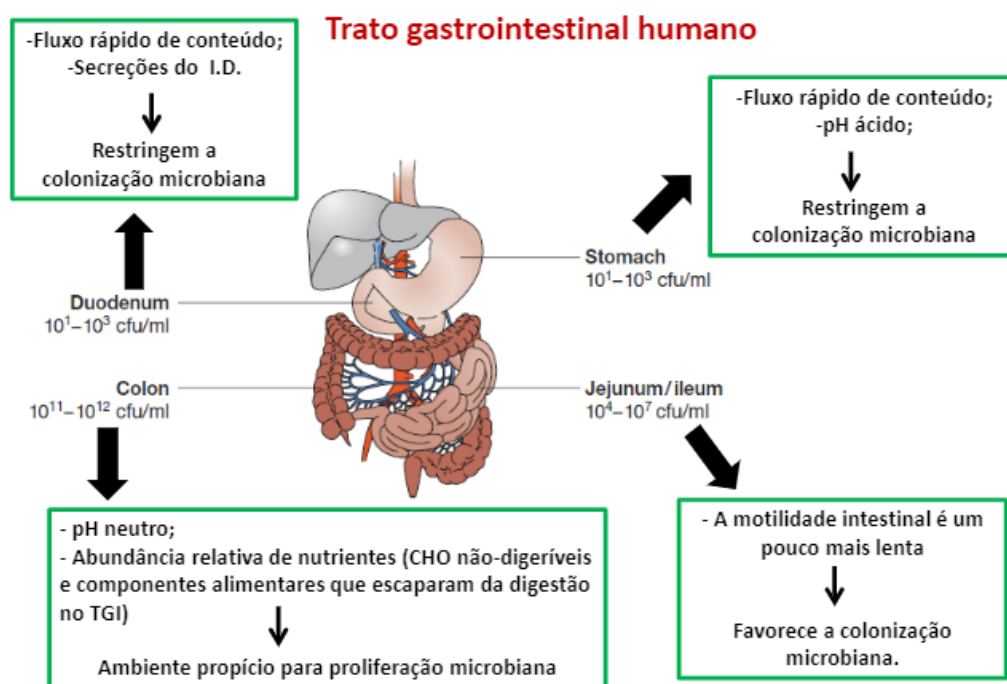
- **Comensalismo:** Um organismo se beneficia e o outro não é afetado. Muitos microrganismos que fazem parte da microbiota residente.

- **Mutualismo.** Ambos organismos se beneficiam. (*Bactérias do intestino grosso que sintetizam Vitamina K – absorvidas pelos vasos sanguíneos; IG fornece os nutrientes para elas*)
- **Parasitismo:** Um organismo se beneficia em detrimento de outro. Muitas bactérias causadoras de doenças são parasitas.

- O princípio de defesa a partir da microbiota dar-se pela competição por receptores ou locais de ligação nas células do hospedeiro, competição por nutrientes, inibição mútua por produtos metabólitos ou tóxicos, etc.

Sucessão do microbiota intestinal

- 1) Nascimento: Colonizadores Primários → *E. coli* e *Enterococcus*.
- 2) Pós-parto: Colonizadores secundários. *Bacteroides*, *Clostridia*, *Bifidobacterium*, etc.
- 3) Até 6 meses: Microbiota sofre interferência do tipo de alimentação.
- 4) A partir dos 6 meses: Microbiota mais diversa e complexa.
- 5) Adulto: Redução gradual da diversidade



Interferência no equilíbrio da microbiota

- Alimentação e Sedentarismo.
- Antibióticos; Germfree.
- Álcool; Idade; Poluição; Estresse e Fadiga; Infecção de Repetição; Fumo.
- Depressão, ansiedade

Consequências do desequilíbrio da microbiota

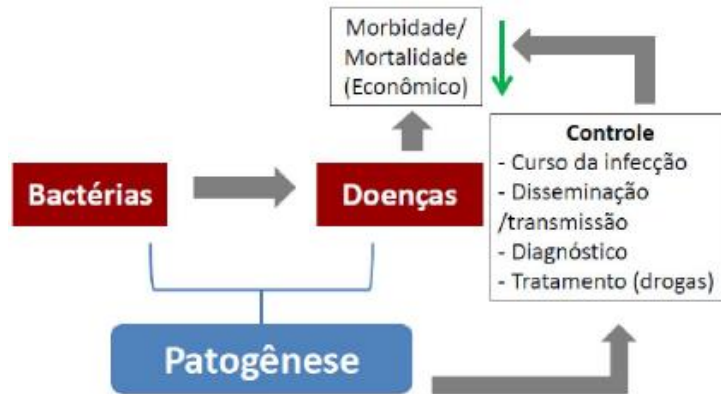
- Inflamação sistêmica;
- Obesidade;
- Diabetes tipo 2;
- Doença de Crohn (inflamação no intestino)
- Câncer do Cólon; Síndrome da vesícula irritável
- Doenças do Sistema Nervoso.

PATOGENICIDADE E VIRULÊNCIA

- O resultado da relação bactéria-hospedeiro depende da:

- Patogenicidade do microrganismo -> **FATORES DE VIRULÊNCIA**
- Resistência do hospedeiro -> **MECANISMO DE DEFESA**

- Importância de se conhecer a patogênese:



Patogenicidade:

É a propriedade de um microrganismo **provocar alterações fisiológicas no hospedeiro**, ou seja, capacidade de produzir doença.

- A patogênese da infecção bacteriana abrange o início do processo infeccioso e os mecanismos que levam ao aparecimento dos sinais e sintomas da doença.

- **Mecanismos de patogenicidade:** Porta de entrada -> Aderência/invasão -> Colonização -> Dano/doença -> Porta de saída

Virulência:

- Grau de patogenicidade, determinada pelos fatores de virulência expressos pela célula

- O microrganismo, para ter sucesso no processo infeccioso, deve:

- Adquirir genes de virulência
- Sentir o Ambiente
- Ligar e desligar genes de virulência
- Deslocar-se para o local de infecção e fixar-se
- Conseguir nutrientes para sobrevivência
- Sobreviver ao stress no local da infecção
- Fugir do sistema imune
- Suportar as defesas do organismo e revidar a isto
- Provocar lesão no tecido do hospedeiro
- Interferir com sistema de sinalização e citoesqueleto da célula do hospedeiro
- Dispersão para células e órgãos

Portas de entrada dos patógenos

- Membrana mucosas: que revestem o Trato respiratório, gastrointestinal, geniturinário e conjuntiva.

- Pele

- Via parenteral: Pele ou Membranas mucosas são danificadas → perfurações, injeções, mordidas, cortes, ferimentos, cirurgias e rompimento.

Trato respiratório

- Inaladas para dentro da cavidade nasal ou boca -> gotículas de umidade ou partículas de pó

Bactéria	Doença
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Pneumonia pneumocócica
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Tuberculose
<i>Bordetella pertussis</i>	Coqueluche

Trato gastrintestinal

- Alimentos e água contaminados

Bactéria	Doença
<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera
<i>Salmonella enterica</i>	Salmonelose
<i>Escherichia coli</i>	Gastroenterites

Trato geniturinário

- Porta de entrada de patógenos sexualmente transmitidos
- Membranas mucosas íntegras ou presença de cortes

Bactéria	Doença
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Gonorréia
<i>Treponema pallidum</i>	Sífilis
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Uretrite

Pele ou via parenteral

- Aberturas na pele, como cortes, ferimentos, folículos pilosos e ductos sudoríparos.
- Na pele íntegra é impenetrável para a maioria das bactérias.

Bactéria	Doença
<i>Clostridium tetani</i>	Tétano
<i>Rickettsia rickettsii</i>	Febre maculosa
<i>Leptospira interrogans</i>	Leptospirose

Portas de saída dos patógenos

- Secreções, excreções ou tecidos que descamam
- Geralmente é a mesma da porta de entrada;
- Trato respiratório, gastrintestinal, geniturinário e pele;

Fatores de virulência

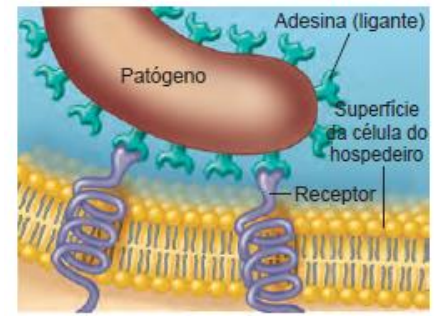
- Estruturas, produtos ou estratégias que contribuem para o aumento da capacidade da bactéria causar doença.

Aderência:

- Mecanismos para aderir aos tecidos do hospedeiro
- Moléculas de superfície do patógeno

- ADESINAS:

- Constituída geralmente por glicoproteínas ou lipoproteínas.
- Se ligam a receptores das células do hospedeiro
- Localizadas no glicocálice ou em outras estruturas como pili, fimbrias e flagelos.



BIOFILMES

- Comunidades estruturadas de células microbianas e seus produtos extracelulares, que se aderem a superfície e compartilham nutrientes disponíveis.
- Um bom exemplo são as placas dentárias.
- Os primeiros organismos a se aderir normalmente são as bactérias, uma vez aderidas à superfície, elas se multiplicam e secretam o glicocálice, que intensifica ainda mais a ligação de uma célula à outra e à superfície.
- Os biofilmes são muitas vezes resistentes a desinfetantes e antibióticos.
- Vantagens do biofilme: nutrientes, proteção: Sistema imunológico, antibioticoterapia, radiação, entrada de protozoários, estabilidade microambiente (água, acidez, oxigênio, etc)
- Formação da matriz extracelular glucano -> coesão entre diferentes espécies de bactérias

Cápsula:

- Algumas bactérias produzem substâncias no glicocálice que formam cápsulas ao redor da parede celular;

- A cápsula **resiste às defesas do hospedeiro por impedir a fagocitose**;

- Ex: *Streptococcus pneumoniae* -> Pneumonia estreptocócica, *Klebsiella pneumoniae* -> Pneumonia bacteriana, *Haemophilus influenzae*, -> pneumonia e meningite em crianças

Componentes de parede celular

- A parede celular de certas bactérias contém substâncias químicas que contribuem para virulência;

- PROTEÍNA M

- Pode ser encontrado tanto na superfície celular quanto nas fimbrias
- Ajuda na aderência da bactéria às células epiteliais do hospedeiro
- Ajuda na resistência à fagocitose
- Ex: *Streptococcus pyogenes*

-OPA

- Medeia a fixação firme às células epiteliais e a invasão celular.
- Ex: *Neisseria gonorrhoeae*
(OPA vem de opacidade -> bactérias que produzem OPA formam colônias opacas em meios de cultura)

- ÁCIDO MICÓLICO

- Resiste a digestão por fagócitos
- Permite a multiplicação da bactéria dentro destes fagócitos
- Ex: *Mycobacterium tuberculosis*

Enzimas

- COAGULASES:

- **Coagulam o fibrinogênio** (proteína produzida no fígado), transformam o fibrinogênio em fibrina
- Fibrinogênio → fibrina → malha de coágulo.
- O coágulo de fibrina pode conferir proteção à fagocitose e isolar a bactéria de outras defesas do hospedeiro

- Envolvidos na formação de abscesso
- Ex: Gêneros de *Staphylococcus*.

- CINASES/QUINASES

- **Degradam a fibrina** e digerem coágulos formados pelo hospedeiro para isolar a infecção.
- Fibrinolisinase ou estreptocinase → *Streptococcus pyogenes*. Essa enzima pode ser injetada para remover coágulos em casos de infarto coronarianos.
- Estafilocinase → *Staphylococcus aureus*

- HIALURONIDASE

- Secretada por alguns estreptococos e *Clostridium*.
- Hidrolisa o ácido hialurônico, polissacarídeo que une certas células do corpo.
- Essa ação digestiva está relacionada a necrose de ferimentos infectados e que auxilie a dispersão patogênica.

- COLAGENASE

- *Clostridium*
- Quebra a proteína colágeno que forma tecidos conectivos de músculos e outros órgãos e tecidos, assim, as células do hospedeiro tornam-se fracamente aderidas -> Disseminação da bactéria
- Forma gangrena gasoso.

- PROTEASES IGA

- **Destroem os anticorpos IgA**, presente nas mucosas do hospedeiro.
- A *N. gonorrhoeae* possui essa habilidade, assim como a *N. meningitidis*, o agente causador da meningite meningocócica, e outros micróbios que infectam o sistema nervoso central.

Variação antigênica

- Burla a resposta imune adaptativa (anticorpos).

- Quando o corpo monta uma resposta imune contra o patógeno, ele já alterou seus antígenos de forma a não ser mais reconhecido e afetado pelos anticorpos.

- Ativação de genes alternativos.

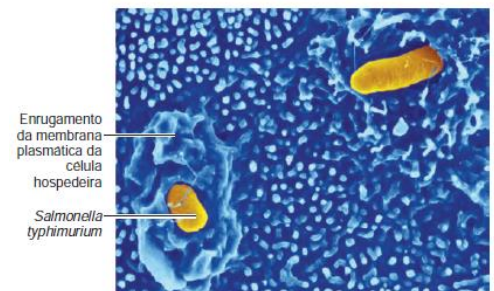
- Exemplos: *Influenzavirus*, o agente causador da gripe; a *Neisseria gonorrhoeae*, que causa a gonorreia;

Penetração no citoesqueleto das células do hospedeiro

- Aderem pelas Adesinas -> Desencadeia cascata de sinalização do hospedeiro -> Ativação de fatores que favorecem a entrada da bactéria na célula -> Mecanismo fornecido pelo citoesqueleto.

- **ACTINA**: proteína componente do citoesqueleto que é utilizada por alguns microrganismo para entrar na célula e para se mover de uma célula para outra.

- **INVASINAS**: Proteínas de superfície das bactérias que causam o rearranjo (desorganização) dos filamentos de actina do citoesqueleto. Assim a MP da célula do hospedeiro emite projeções (enrugamento) semelhantes a pseudópodes e englobam a bactéria, facilitando sua invasão.



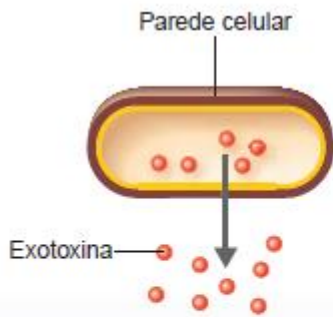
Produção de Toxinas

- Toxicogenicidade = Capacidade de produzir toxinas

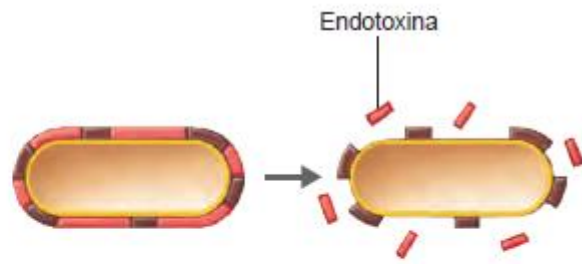
- Algumas toxinas **geram febre, distúrbios cardiovasculares, diarreia e choque**.

- As toxinas também podem **inibir a síntese proteica, destruir células e vasos sanguíneos e danificar o sistema nervoso central**, causando espasmos.

- Podem ser endotoxinas ou exotoxinas



(a) Exotoxinas são proteínas produzidas dentro da bactéria patogênica, mais comumente as gram-positivas, como parte de seu crescimento e metabolismo. As exotoxinas são, então, secretadas ou liberadas no meio circundante após a lise celular.

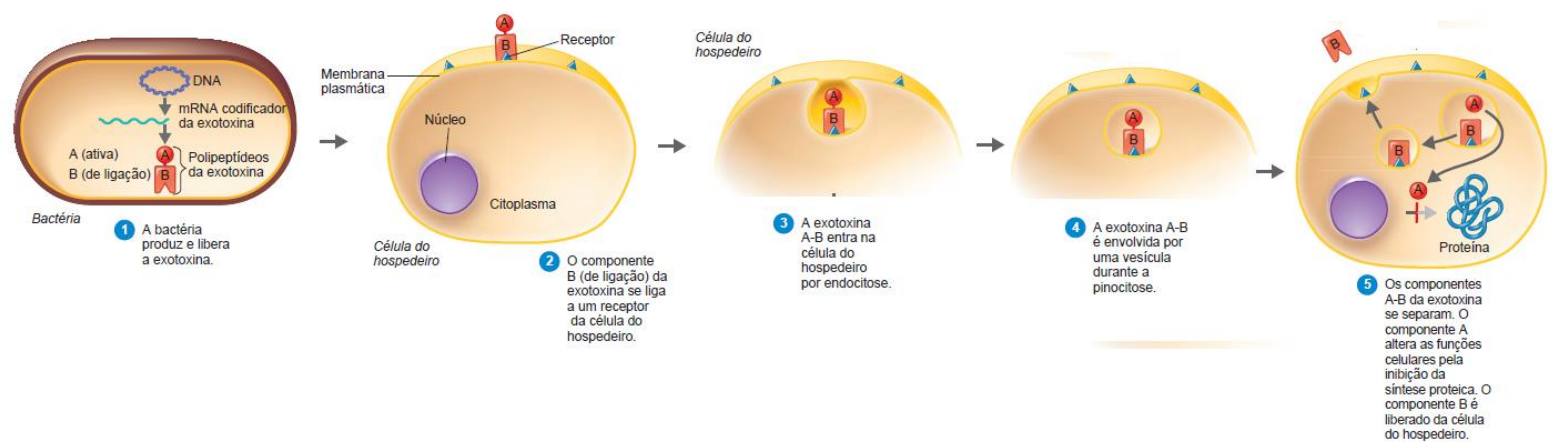


(b) Endotoxinas consistem da porção lipídica dos lipopolissacarídeos (LPS) que fazem parte da membrana externa da parede celular de bactérias gram-negativas (lipídeo A; veja a Figura 4.13c). As endotoxinas são liberadas quando a bactéria morre e a célula se degrada.

Exotoxinas

- Produzidas no interior das bactérias e secretadas no meio ambiente ou liberadas após lise
- São proteínas ou enzimas.
- As exotoxinas agem destruindo determinadas partes das células do hospedeiro ou inibindo certas funções metabólicas e pode ser letais, como por ex. a exotoxina botulínica.
- Doenças causadas por bactérias que produzem exotoxinas frequentemente são causadas por quantidades mínimas dessa substância, e não pela bactéria em si. (*Ex: botulismo, e intoxicação alimentar estafilocócica -> Ingestão da toxina*)
- São divididas em 3 tipos principais:

- **TOXINA A-B:** Toxina B auxilia a invasão da célula hospedeira, se ligando a um receptor superficial, promovendo a transferência da subunidade A, que promove danos a célula.



- **TOXINAS DANIFICADORAS DE MEMBRANA – CITOLÍTICAS:** Causam a lise da célula hospedeira pela da MP. (*Leucocidinas -> Lise de leucócitos e Hemolisinas -> Lise de hemácias*)
- **SUPERANTÍGENOS:** Estimulam um grande número de células da resposta imune em intensas reações inflamatórias e danos teciduais

Tabela 15.2 Doenças causadas por exotoxinas			
Doença	Bactéria	Tipo de exotoxina	Mecanismo
Botulismo	<i>Clostridium botulinum</i>	A-B	A neurotoxina impede a transmissão de impulsos nervosos resultando em paralisia flácida.
Tétano	<i>Clostridium tetani</i>	A-B	A neurotoxina bloqueia os impulsos nervosos da via de relaxamento muscular, resultando em contrações descontroladas dos músculos.
Difteria	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	A-B	A citotoxina inibe a síntese proteica, especialmente em células nervosas, cardíacas e renais.
Síndrome da pele escaldada	<i>Staphylococcus aureus</i>	A-B	Uma exotoxina causa a separação das camadas da pele, que se soltam (pele escaldada).
Cólera	<i>Vibrio cholerae</i>	A-B	A enterotoxina causa a secreção de grandes quantidades de fluidos e eletrólitos, resultando em diarreia.
Diarreia do viajante	<i>Escherichia coli</i> enterotoxigênica e <i>Shigella</i> spp.	A-B	A enterotoxina causa a secreção de grandes quantidades de fluidos e eletrólitos, resultando em diarreia.
Antraz	<i>Bacillus anthracis</i>	A-B	Dois componentes A entram na célula pelo componente B. As proteínas A induzem choque e diminuem as respostas imunológicas do hospedeiro.
Gangrena gasosa e intoxicação alimentar	<i>Clostridium perfringens</i> e outras espécies de <i>Clostridium</i>	Toxina danificadora de membrana	Uma exotoxina (citotoxina) causa destruição maciça de eritrócitos (hemólise); outra exotoxina (enterotoxina) está relacionada à intoxicação alimentar, que resulta em diarreia.
Diarreia associada a antibióticos	<i>Clostridium difficile</i>	Toxina danificadora de membrana	A enterotoxina causa a secreção de grandes quantidades de fluidos e eletrólitos, resultando em diarreia; a citotoxina resulta em desorganização do citoesqueleto das células do hospedeiro.
Intoxicação alimentar	<i>Staphylococcus aureus</i>	Superantígeno	A enterotoxina causa a secreção de grandes quantidades de fluidos e eletrólitos, resultando em diarreia.
Síndrome do choque tóxico (SCT)	<i>Staphylococcus aureus</i>	Superantígeno	A toxina causa secreção de fluidos e eletrólitos de vasos capilares, resultando em diminuição do volume sanguíneo e queda da pressão arterial.

Endotoxinas

- As endotoxinas são parte da porção externa da parede celular de bactérias gram-negativas;
- Esta membrana externa consiste em lipoproteínas, fosfolipídeos e lipopolissacarídeos (LPS);
- Assim, as **endotoxinas são lipopolissacarídeos**, enquanto as exotoxinas são proteínas;
- As endotoxinas são liberadas quando as bactérias gram-negativas morrem e suas células sofrem lise, liberando a toxina;

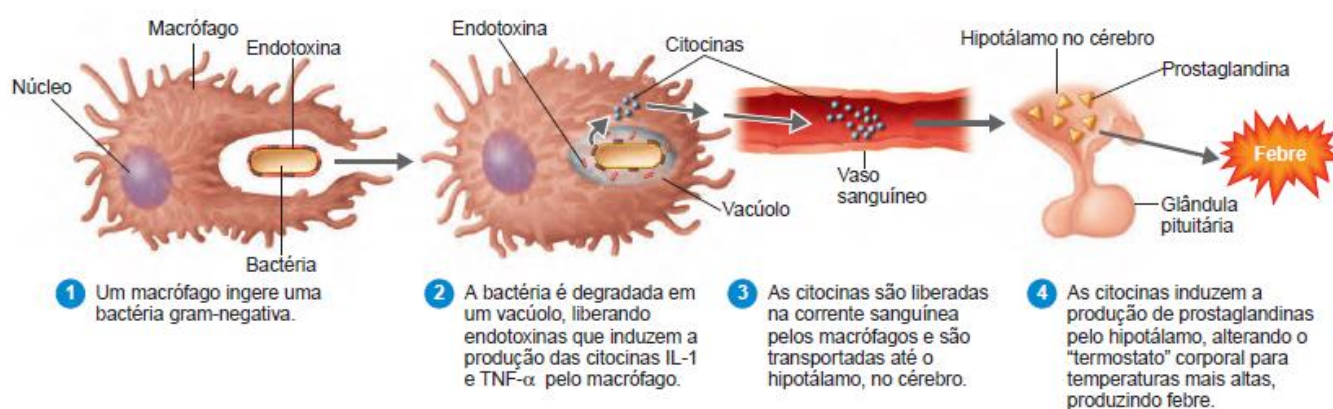

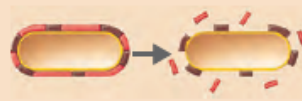


Tabela 15.3 Exotoxinas e endotoxinas

Propriedade	Exotoxinas	Endotoxinas
		
Fonte bacteriana	Principalmente bactérias gram-positivas	Bactérias gram-negativas
Relação com o micro-organismo	Produto metabólico de células em crescimento	Presentes em LPS da membrana externa da parede celular e liberadas com a destruição da célula ou durante a divisão celular
Propriedade química	Proteínas, normalmente compostas de duas partes (A-B)	Porção lipídica (lipídeo A) do LPS da membrana externa (lipopolissacarídeo)
Farmacologia (efeito no organismo)	Específica para uma estrutura ou função celular particular no hospedeiro (afeta principalmente funções celulares, neurônios e trato gastrointestinal)	Geral, causando febre, fraqueza, dores e choque; todas produzem os mesmos efeitos
Estabilidade ao calor	Instável; normalmente podem ser destruídas em 60 a 80°C (exceto a enterotoxina estafilocócica)	Estável; podem suportar autoclave (121°C por uma hora)
Toxicidade (habilidade de causar doença)	Alta	Baixa
Geração de febre	Não	Sim
Imunologia (em relação aos anticorpos)	Podem ser convertidas em toxoides para imunização contra a toxina; neutralizadas por antitoxinas	Não são facilmente neutralizadas por antitoxinas; toxoides não podem ser produzidos para imunizar contra as toxinas
Dose letal	Pequena	Consideravelmente maior
Doenças representativas	Gangrena gasosa, tétano, botulismo, difteria, febre escarlatina	Febre tifoide, infecções do trato urinário e meningite meningocócica

ANTIBIÓTICOS BACTERIANOS

- Conceito de relevância:

- **Toxicidade seletiva:** é a inibição seletiva do crescimento do microrganismo sem danos ao hospedeiro.

- Existem 4 sítios principais na célula bacteriana que as diferem das células humanas e por isso são alvos dos fármacos: **Parede Celular**, **Ribossomos**, **Ácidos Nucleicos**, **Membrana celular**.

- Espectro de atividade:

- **Reduzido:** Atuam sobre um pequeno número de espécies bacterianas
- **Intermediário:** Atuam sobre um número limitado de bactérias
- **Ampla:** Atuam sobre um grande número de espécies bacterianas

- Atividade dos fármacos:

- **Bactericida:** mata Bactéria -> *Úteis em pacientes imunossuprimidos*
- **Bacteriostática:** Inibe o crescimento bacteriano, mas não causa sua morte -> *fagocitose é necessária para matar a bactéria, logo, depende da resposta imune do hospedeiro*

- Origem dos antibióticos:

- **Naturais:** Obtidos a partir de microrganismos (fungos e próprias bactérias)
- **Sintéticos:** Obtidos por síntese química (laboratório, indústria)
- **Semi-sintéticos:** Modificações químicas de antimicrobianos naturais (melhoramento)

MECANISMOS DE AÇÃO

Inibição da parede celular (Bactericidas)

- Inibição das **ligações cruzadas (transpeptidação)** do peptidoglicano (responsável pela integridade da parede bacteriana) Para isso, devem ligar-se e inibir **as proteínas ligadoras de penicilina (PLP)** responsáveis pelo passo final da síntese da parede bacteriana.

- Inibição de outras etapas da síntese de peptidoglicano

- Inibição da síntese de B-glicano

- Bactericidas

Se ligam às proteínas PLP (ou PBP) da bactéria, essas proteínas se ligam formando a parede celular, logo, se o antibiótico se liga a elas, não temos a formação da parede celular. As bactérias vão se adaptando e fazem uma PLP diferente, impedindo a ação antibiótica.

Os antibióticos B-lactâmicos, possuem um anel aromático B-lactâmico. Porém, as bactérias podem ser resistentes a ação desta estrutura, quebrando o seu anel pelas Beta-Lactamases.

Membrana plasmática perde a permeabilidade seletiva, entra água e ocorre lise.

- Fármacos:

- **B-lactâmicos:** **Penicilinas, Cefalosporinas, Monobactâmicos, Carbapenênicos** -> *inibem a transpeptidação ligando na transpeptidase*
- **Glicopeptídeos:** **Vancomicina (atua na gram +)** -> *liga-se diretamente à porção D-alanil-D-alanina do pentapeptídeo, bloqueando a ligação da transpeptidase*

Inibição síntese de proteína

- Ação sobre a **subunidade ribossomal 50S e 30S**, se ligam a essas subunidades e impedem a leitura do RNA.

- Maioria são **bacteriostático**

- Fármacos:

- **Aminoglicosídeos e tetraciclina** -> **Atuam na subunidade 30s**
- **Macrolídeos** (Eritromicina, claritromicina, azitromicina), **Cloranfenicol e Clindamicina** -> **Atuam na subunidade 50s**

Inibição da síntese de ácido nucleico (bactericidas e bacteriostáticos)

- Maioria **bactericidas**, a sulfonamida que é bacteriostático

- **Quinolonas e fluorquinolonas** -> **Inibe a síntese de DNA**
- **Rifamicinas** -> **Inibe a síntese de mRNA**
- **Sulfonamida e trimetopim** -> **Inibe a síntese de metabólitos (ácido fólico, precursor dos ac. Nucleicos)**

Danos à Membrana Plasmática (bactericidas)

- Causam poros na MP -> Lise celular

- Possuem uma desvantagem pois não são tão específicos e podem acabar machucando as MP eucarióticas também.

- **Polimixinas** -> **Rompem os fosfolípidios da membrana plasmática bacteriana.**

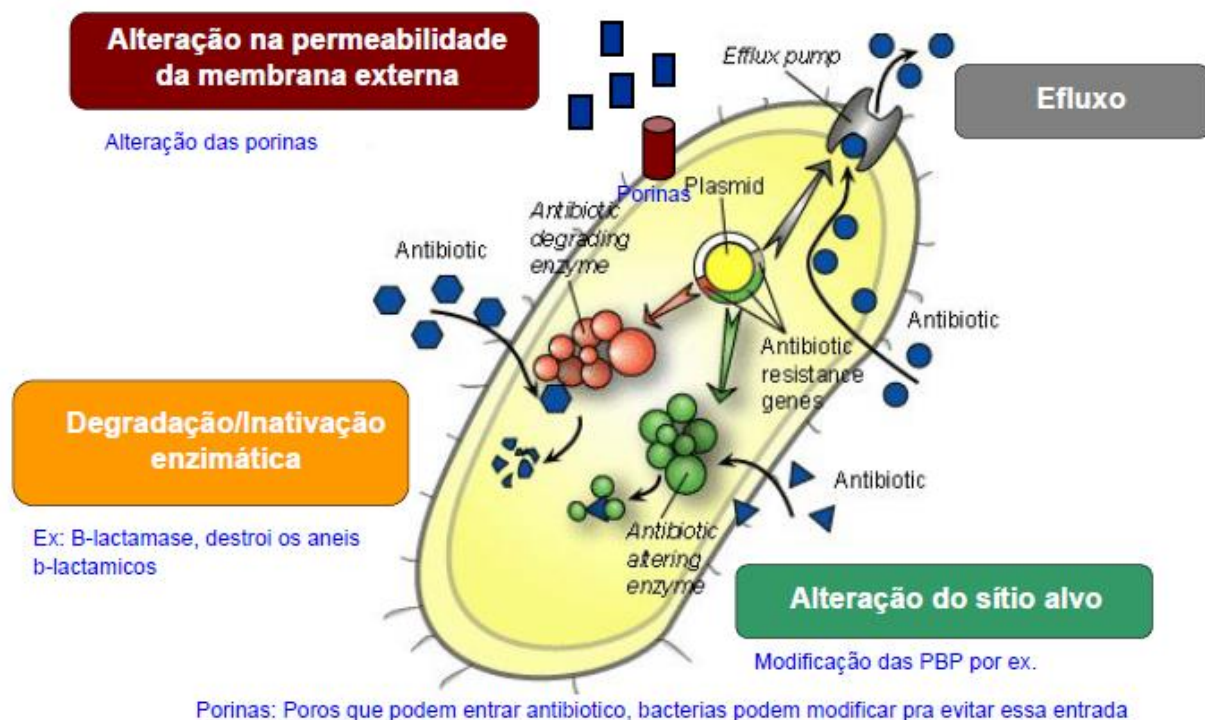
MECANISMOS DE RESISTÊNCIA BACTERIANA

- Bactéria resistente é aquela capaz de crescer in vitro nas concentrações que o antibiótico atingiria no sangue quando administrado por via oral.

- Resistência Natural ou adquirida (via plasmídeo, conjugação, bacteriófago, etc)

- Formas de Resistência:

- **Enzimas:** produção de enzimas capaz de destruir ou modificar o antibiótico (ex: B-lactamase)
- **Bombas de efluxo:** expulsa antibiótico
- **Modificações estruturais:** Muda sítios de ligação, muda subunidades ribossomais, etc



Mutação cromossomal x fármaco afetado

1. Modificação de alvos bacterianos

- Alteração das enzimas PBP's- Penicilinas , Meticilina
- Alteração da sub. 30S- estreptomicinas
- Substituição do aminoácido na cadeia lateral no peptídeo glicano- Vancomicina
- Alteração na DNA girase- Quinolonas
- Alteração na RNA polimerase- Rifampina
- Deleção de genes que forma catalase-peroxidase- Isoniazida
- Mudança da enzima que degrada o PABA- Trimetoprim

2. Redução da permeabilidade do fármaco

- Alteração de tamanho/ quantidade de porinas (diminui entrada) - Penicilinas e aminoglicosídeos

3. Exportação do fármaco

- Bomba de efluxo – Tetraciclina e Sulfonamidas

Aspectos que contribuem para resistência aos ATB's

1. Uso de múltiplos ATB quando apenas um seria suficiente
2. Receita pra doenças autolimitantes
3. Prescrição por período desnecessariamente longo
4. Uso excessivo de ATB na profilaxia pré e pós operatória
5. Venda de ATBs sem receita médica. Uso indiscriminado
6. Uso de ATB em ração animal para prevenir infecções e promover crescimento. (Setor que mais utiliza ATB no mundo)
7. Uso para pacientes com resfriado ou gripe 8. Uso para prevenção de infecções em imunodeprimidos

Tabela 20.3 Drogas antibacterianas	
Drogas agrupadas de acordo com o mecanismo de ação	Comentários
INIBIDORES DA SÍNTESE DE PAREDE CELULAR	
Penicilinas naturais	
Penicilina G	Contra bactérias gram-negativas; requer Injeção
Penicilina V	Contra bactérias gram-positivas; administração oral
Penicilinas semissintéticas	
Oxacilina	Resistente à penicilinase
Ampicilina	Ampla espectro
Amoxicilina	Ampla espectro; combinada com um Inibidor de penicilinase
Aztreonam	Um monobactamo; eficiente contra bactérias gram-negativas, inclusive <i>Pseudomonas</i> spp.
Imipenem	Um carbapenemo; espectro de ação muito amplo
Cefalosporinas	
Cefalotina	Cefalosporina de primeira geração; atividade similar a penicilina; requer Injeção
Cefixima	Cefalosporina de quarta geração; administração oral
Antibióticos polipeptídicos	
Bacitracina	Contra bactérias gram-positivas; aplicação tópica
Vancomicina	Um tipo glicopeptídico; resistente a penicilinase; contra bactérias gram-positivas
Antibióticos antimicobacterianos	
Isoniazida	Inibe a síntese de ácido micólico, um componente da parede celular de <i>Mycobacterium</i> spp.
Etambutol	Inibe a incorporação de ácido micólico na parede celular de <i>Mycobacterium</i> spp.
INIBIDORES DE SÍNTESE PROTEICA	
Cloranfenicol	Ampla espectro de ação; potencialmente tóxico
Aminoglicosídeos	
Estreptomina	Ampla espectro de ação, incluindo micobactérias
Neomicina	Uso tópico; ampla espectro de ação
Gentamicina	Ampla espectro de ação, incluindo <i>Pseudomonas</i> spp.
Tetraciclina	
Tetraciclina, oxitetraciclina, clortetraciclina	Ampla espectro de ação, incluindo clamídias e rickettsias; aditivo de rações animais
Macrolídeos	
Eritromicina	Alternativa a penicilina
Azitromicina, claritromicina	Semissintéticos; espectro de ação mais amplo e penetração tecidual superior a eritromicina
Telitromicina (Ketek)	Nova geração de macrolídeos semissintéticos, usados para combater a resistência a outros macrolídeos
Streptograminas	
Quinupristina e dalfopristina (Synercid)	Alternativa ao tratamento de infecções causadas por bactérias gram-positivas resistentes a vancomicina
Oxazolidinonas	
Linezolida (Zyvox)	Útil principalmente contra bactérias gram-positivas resistentes a penicilina
DANO À MEMBRANA PLASMÁTICA	
Polimixina B	Uso tópico; bactérias gram-negativas, incluindo <i>Pseudomonas</i> spp.
INIBIDORES DA SÍNTESE DE ÁCIDOS NUCLEICOS	
Rifamicinas	
Rifampina (ou rifampicina)	Inibe a síntese de mRNA; tratamento de tuberculose

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

- Diagnóstico clínico:

- Sinais e sintomas
- Suspeita diagnóstica
- Tratamento
- Sítio e material a ser coletado

- Diagnóstico laboratorial:

- Identificação agentes envolvidos em patologias
- Suporte para o diagnóstico/tratamento clínico
- Investigação epidemiológica
- Investigação científica

- Coleta e transporte de amostra biológica

- Materiais estéreis e Esterilizados
- Antissepsia, esterilização material usado coleta, EPI's
- Amostra deve ser representativa do processo infeccioso: Deve ser realizada ANTES do início de antibioticoterapia
- Atenção: Escarro – e não saliva/ Pús da lesão – e não do trato fistuloso/ Swab da porção profunda da ferida e não da superfície
- A amostra deve ser levada o mais rápido possível para o lab análises, podendo ser utilizado meios especiais de transporte (evitar ressecção e morte dos espécimes da amostra)
- O tipo de amostra deve corresponder ao quadro clínico. Na ausência de sinais ou sintomas que indiquem a localização, deve ser coletados: Sangue, Urina, para cultura.
- Deve ser considerado:
 - Coleta de sítio normalmente estéril (sangue, líquido cefalorraquidiano, líquido articular, líquido pleural): Qualquer achado é significativo
 - Coleta de sítio com Microbiota normal do corpo humano pode inviabilizar o diagnóstico microbiológico

Métodos de diagnóstico

Exame direto e Cultura

- Características da célula bacteriana – morfotintórias

- Cocos

- Bacilos

- Espirais

- Características da colônia bacteriana- forma, odor, textura

- Forma e organização (coloração)

Testes bioquímicos

- Metabolismo (enzimas)

- Aeróbicas e Anaeróbicas

- Fermentativas e não fermentativas

- Suscetibilidade à antibióticos (Sensíveis e Resistentes)

Anticorpos e antígenos

- Imunodiagnóstico

DNA e RNA

- Detecção de ácidos nucleicos

Meios de Cultura

- Meios líquidos, sólidos (ágar) ou Industrializados em pó

- **Meios enriquecidos:** isolamento de organismos em pequeno número

- **Meio seletivo:** o meio restringe crescimento de alguns grupos e favorece outros (de interesse)

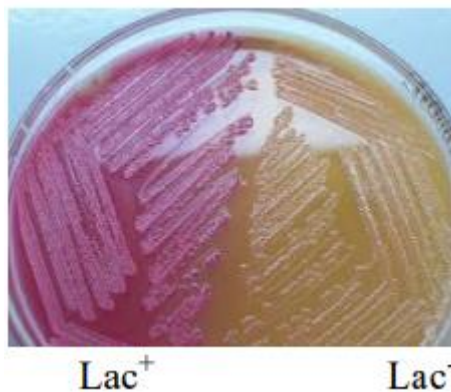
- **Meio diferencial:** permite a fácil identificação da colônia da bactéria de interesse, dentre outras que crescem no meio.

Ágar MacConkey:

- É um meio de cultura seletivo destinado ao **crescimento de bactérias Gram-negativas**. Isso ocorre porque ele possui em sua composição duas substâncias que **inibem o crescimento de bactérias Gram-positivas: sais biliares e cristal violeta**
- É um meio de cultura diferencial. Sua formulação contém como único açúcar **a lactose e o indicador de pH vermelho neutro** e, por isto, permite a diferenciação visual das **bactérias Lactose + das Lactose-**

INTERPETAÇÃO

- **Fermentadoras de lactose (Lac+)** -> originam **colônias vermelhas ou rosas** -> Ex: E. coli
- **Não fermentadoras de lactose (Lac-)** -> formam colônias brancas, **não mudam de cor o meio** -> Ex: Salmonella, Shigella, Pseudomonas)



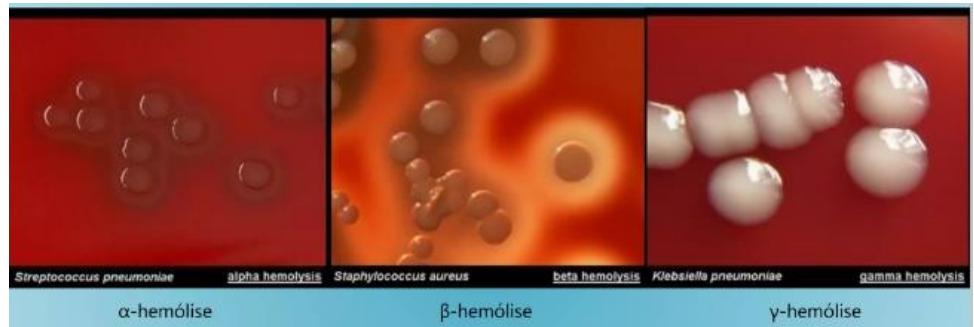
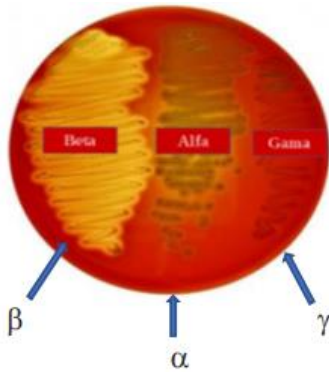
Ágar sangue:

- Meio de cultura diferencial, não é seletivo. Necessário para detectar e diferenciar bactérias hemolíticas.
- Oferece **ótimas condições de crescimento** à maioria dos microrganismos (nitrogênio, carbono, aminoácidos e vitaminas), por isso é um meio para cultivo de bactérias que não crescem facilmente (fastidiosas)
- **Rápido:** contagem e/ou isolamento de microrganismo se realiza em um período rápido, entre **18 a 24 horas** de incubação;
- **Uso fácil e prático:** o meio de cultura ágar sangue é fornecido em placas prontas para utilização;
- Verificação **de hemólise** dos *Streptococcus spp.* e *Staphylococcus spp.*;
- Cor original do meio: vermelho;

INTERPRETAÇÃO

- **β hemólise:** presença de halo transparente ao redor das colônias semeadas (**lise total dos eritrócitos**) -> Ex. *S. pyogenes*, *S. agalactiae*
- **α hemólise:** presença de halo esverdeado ao redor das colônias semeadas (**lise parcial dos eritrócitos**) -> Ex. *S. viridans*, *S. pneumoniae*;

- **γ hemólise**: ausência de halo ao redor das colônias (**eritrócitos permanecem íntegros, sem hemólise**) -> Ex. *Enterococcus faecalis*



Ágar chocolate:

- Meio de cultura semelhante ao ágar sangue, porém é feito o aquecimento do sangue.
- À base do meio, é **adicionado sangue** de cavalo, carneiro ou coelho em temperatura alta, o que faz com que as **hemácias lisem, liberando hemina e hematina**, compostos fundamentais para o crescimento dos microrganismos exigentes.
- **Utilidade**: Crescimento de microrganismos *exigentes Haemophilus spp., Neisseria spp., Branhamella catarrhalis e Moraxella spp.*

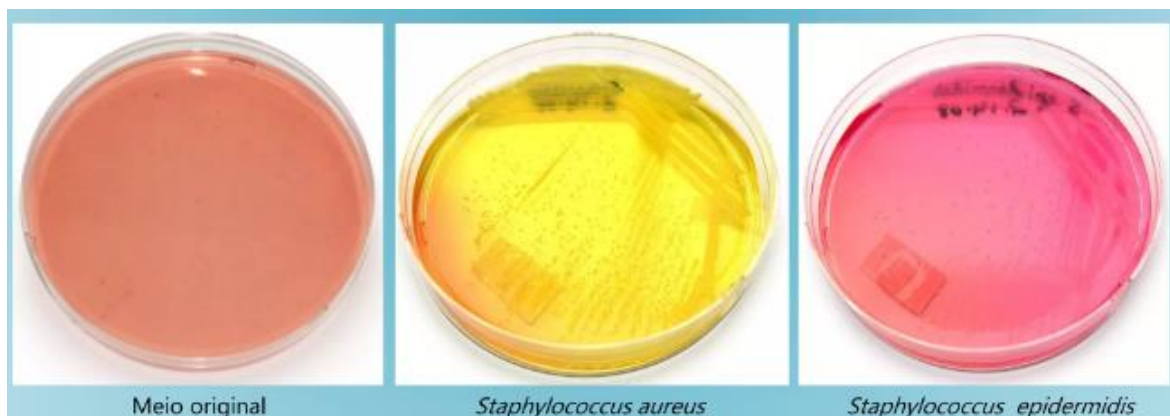
INTERPRETAÇÃO

- Cor original do meio -> castanho escuro (chocolate).
- Colônias de **tamanho pequeno a médio**, com **pigmento amarelo**: sugestivo de *Neisseria spp, Branhamella catarrhalis ou Moraxella spp.*
- Colônias **pequenas e delicadas**, com **pigmento creme claro**: sugestivo de *Haemophilus spp.*



Ágar Manitol:

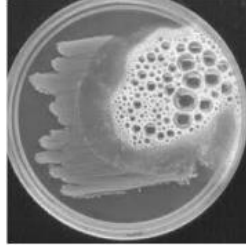
- Verificar se o microrganismo tem a capacidade de **fermentar o manitol** contendo 7,5% de **cloreto de sódio**.
- A degradação do manitol com a produção de ácido muda a **cor do meio de rosado a amarelo**.
- Formação **de halo amarelo ao redor das colônias**.
- Formação desse halo amarelo, identifica *Staphylococcus aureus*;



Provas de identificação

- CATALASE:

- Teste que identifica a presença da enzima catalase converte o peróxido de hidrogênio em oxigênio e água -> $H_2O_2 \rightarrow H_2O + O_2$
- A liberação do oxigênio se observa **pela formação de bolhas** -> Identificando bactérias **catalases +**
- Geralmente utilizado para diferenciar *estafilococos* (catalase positiva) dos *estreptococos* (catalase negativa).



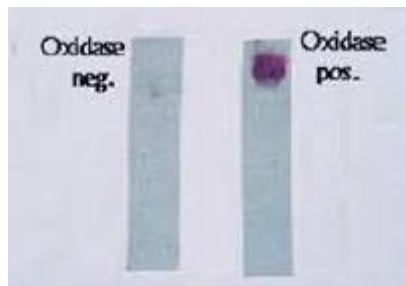
- COAGULASE:

- Tem por finalidade Verificar se o microrganismo possui a coagulase
- Proteína que **coagula o fibrinogênio em fibrina**, levando a **coagulação do plasma**.
- *Staphylococcus. Aureus* -> exemplo de **coagulase +**
- Se não há formação de coágulo é *Staphylococcus coagulas* – (ex: *S. epidermidis*)



- OXIDASE

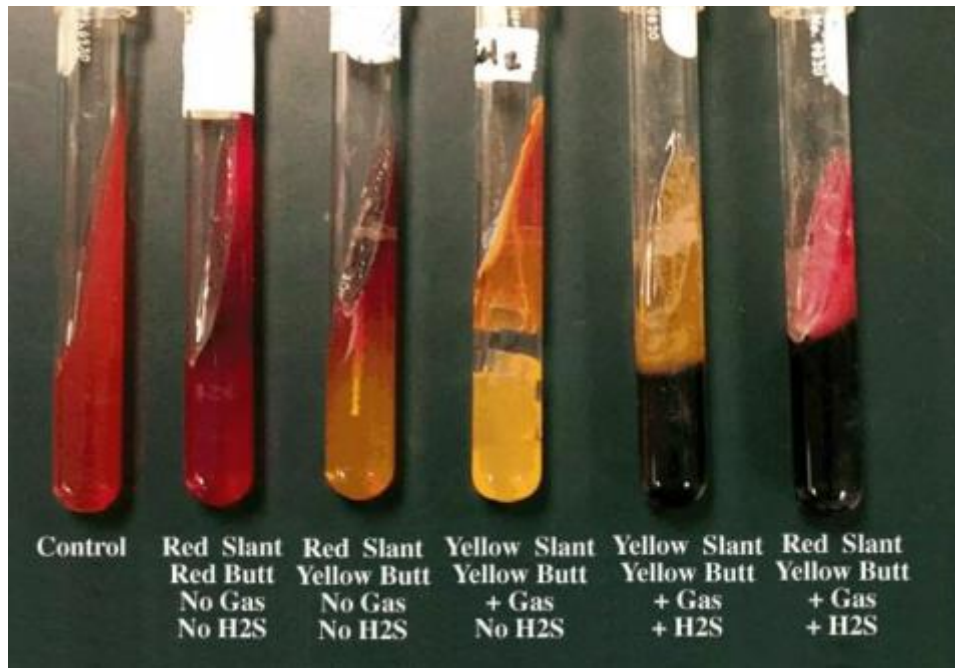
- Teste para detectar a presença da **enzima oxidase** -> que catalisa uma reacção de oxidação/redução do O_2
- Útil para especificação e identificação de **bactérias que têm de usar o oxigênio como o aceitador de elétrons final em respiração aeróbica** -> **Não fermentativas é Oxidase + e Fermentadores é Oxida -**
- **Resultado:** O aparecimento de uma **cor azul/violeta** indica a **reação positiva**.



- TSI (Triple Sugar Iron)

- É usado para a **diferenciação de bacilos entéricos gram-negativos** baseados na **fermentação dos carboidratos** e **produção de sulfeto de hidrogênio (H_2S)**

- Contém em sua composição: **3 açúcares** (Glicose, lactose e sacarose), **Vermelho de fenol** que é indicador de pH para a detecção da fermentação desses açúcares, e **tiosulfato de ferro** que detecta produção de H₂S
- **Resultado:** A fermentação é indicada pela **mudança da cor do indicador de pH, de vermelho para AMARELO (pH ácido)** e a produção de **H₂S cor negra na base do tubo**



Teste de susceptibilidade aos antibióticos

- **Antibiograma:** é um teste que oferece como resultado **padrões de resistência ou susceptibilidade de uma bactéria** específica a **vários antimicrobianos** (antibióticos ou quimioterápicos).

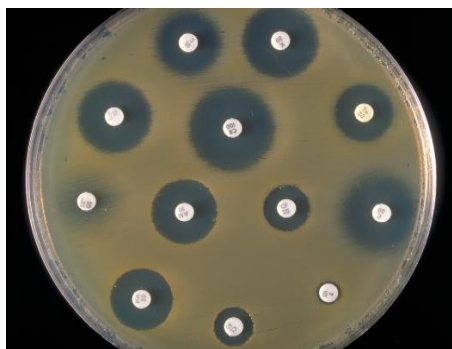
- Os resultados do antibiograma são interpretados e **usados para tomar decisões sobre tratamento**.

- **Modo de execução:**

- Utilização de discos de papel filtro impregnados com concentração padrão de antibiótico e colocados no meio de cultura
- O método informa se a bactéria é resistente, sensível ou se possui sensibilidade intermediária à determinado antibiótico pela medição do halo de inibição
- A interpretação da susceptibilidade se baseia na **medida do halo de inibição do crescimento bacteriano formado ao redor do disco**

- **Quanto maior o halo, maior a sensibilidade da bactéria ao antibiótico**

- **Fita teste** – Verifica CIM (Concentração inibitória mínima)
- **Teste em Tubos** – Define a concentração do ATB
 - CIM- Bacteriostático (Crescimento e turbidez visível)
 - CBM- Bactericida (crescimento ausente em placas)



MICROBIOLOGIA CLINICA

Mycobacterium tuberculosis

- **Doença:** Tuberculose

- Tuberculose pulmonar
- Tuberculose extrapulmonar: Pleural, ganglionar, meningoencefálica

- **Fator de Virulência:**

- **Fator Corda:** responsável pelo crescimento da célula em arranjo de cordão
- **Lipídeos da parede celular** - atuam como impermeabilizante para as micobactérias contra ação de drogas antimicrobianas e agentes químicos desinfetantes, além de conferir resistência às condições de estresse ambiental (Ácido micólico, cera-D)

- **Tratamento:** Rimfampicina, isorizida, (primeiros 2 meses) pirazinamina e etambutol (outros 4 meses)

Neisseria meningitidis

- **Doenças:** Meningite e meningococemia

- **Fatores de virulência:**

- **Capsula polissacarídica:** Impede a fagocitose
- **Endotoxina:** Quando sofre lise é liberada (causa febre, hipotensão, E PODE CAUSAR SEPSE)
- **IgA Protease:** Quebra o IgA das mucosas e facilita a adesão
- **Pilis:** Adesão

- **Características clínicas:**

- **Meningite:** **Infecção das meninges** -> Sonolência, Dor de cabeça e rigidez na nuca, febre alta, náusea e vômito, confusão mental e convulsão.
- **Meningococemia:** **infecção da corrente sanguínea** -> regiões com necrose, Petéquias

- **Tratamento:** Penicilina G

Neisseria gonorrhoeae

- **Doença:** Gonorreia

- **Fatores de virulência:**

- **IgA protease**
- **Fímbrias:** adesão
- **Cápsula**

Escherichia coli

- **Sorotipos (somente saber quais)**

- *E. coli* enteropatogênica clássica (EPEC)
- *E. coli* enterotoxigênica (ETEC)
- *E. coli* enteroagregativa (EAEC)
- *E. coli* enteroinvasiva (EIEC)
- *E. coli* enterohemorrágica (EHEC)
- *E. Coli* Uropatogência

- Fatores de virulência:

- Fímbrias: Permite adesão
- Capsula antifagocitária
- Endotoxinas

- E. coli entorohemorrágica

- A pior de todas as EHEC, e a mais bem estudada, que causa diarreia sanguinolenta, dores abdominais severas, mas sem febre. Afeta todas as idades, sendo que altas taxas de mortalidade ocorrem em jovens e idosos. Nesses últimos pode causar púrpura trombocitopênica.
- A bactéria produz **toxina, chamada verotoxina**. De 5 a 10% dos afetados podem desenvolver a Síndrome Hemolítica Urêmica (SHU) e falência renal súbita. O período de incubação vai de 2 a 8 dias.

- **E. coli da microbiota:** E. coli comensal, faz parte da microbiota intestinal e não é patogênica. Porém pode atingir o trato urogenital, causando infecção, os fatores de virulência relacionados estão as fímbrias que permite adesão e motilidade.

Streptococcus pneumoniae

- Características gerais do patógeno:

- Forma Diplococos
- Gram +
- Anaeróbios Facultativos
- Microbiota da orofaringe

- Fatores de virulência:

- Cápsula polissacarídea: responsável invasão, impede a fagocitose
- Produção de IgA protease
- Pneumolisina + colesterol: Fazem poros nas membranas celulares do hospedeiro

- Meio de cultura:

- **Ágar sangue:** os pneumococos formam colônias circundadas por halos de alfa-hemólise

Streptococcus pyogenes

- **Doenças:** Doenças supurativas (que produzem pus), por exemplo, faringite e celulite; doenças não supurativas (imunológicas), por exemplo, febre reumática e glomerulonefrite aguda.

- Fatores de virulência

- Proteína M: uma proteína estrutural -> impede a ligação com o C3b (proporciona características antifagocíticas e anticomplemento).
- A proteína M também pode se ligar a receptores celulares, aumentando a adesão e invasão de células epiteliais.
- Ácido lipoteicoico e Proteína F.
- Capacidade antifagocítica

- Manifestações clínicas

- **Faringite:** dor de garganta e inflamação de regiões próximas,
- **Fascite Necrosante:** Infecção na pele por cortes ou queimaduras.
- **Escarlatina:** Dor de garganta intensa, Pequenas manchas na pele de cor vermelho-
- **Febre reumática:** Disseminação da inflamação no tecido conjuntivo
- **Glomerulonefrite:** Insuficiência Renal, Edema, HÁ, Proteinúria

- Diagnóstico microbiológico

- Observação microscópica com a técnica de Gram.
- Sorologia também é útil (análise de anticorpos).
- Antibiograma para identificação de sensibilidade a Bacitracina.
- **Meio de cultura: Ágar Sangue - Beta hemolíticos**

Staphylococcus saprophyticus

- Doença: ITU

- Características clínicas

- Dor ou queimação ao urinar
- Vontade frequente e repentina de urinar em pouca quantidade
- Sensação de não conseguir esvaziar a bexiga
- Urina turva, escura, cheiro forte ou com presença de sangue

- Grupos mais expostos:

- Mulheres jovens sexualmente ativas

- Diagnóstico microbiológico:

- Cultura Ágar sangue
- PCR

Staphylococcus aureus

- **Doenças:** Abscessos em diversos órgãos, endocardite, gastroenterite (intoxicação alimentar), síndrome do choque tóxico, pneumonia hospitalar, infecções de feridas cirúrgicas e sépsis.

- Fatores de virulência

- Adesinas
- Produção de coagulase e catalase
- Produção de toxinas, enterotoxinas, TSST, proteína A, lipases e polissacarídeos capsulares.
- Proteínas antigênicas: ác. Tecóico, glicopeptídeo, prot A.

- Manifestações clínicas

- Febre, hipotensão, erupção cutânea difusa, descamação, envolvimento de múltiplos órgãos. Fármaco: penicilina G.

- Diagnóstico microbiológico

- Teste da catalase
- Teste da coagulase: forma precipitado branco
- Ágar sangue: coloração branca ou amarelada, opaca, cremosas e convexas. Halo: hemólise.

Staphylococcus epidermidis

- Características gerais

- Cocos Gram + em agrupamentos ("cachos de uvas").
- Coagulase-negativos
- Catalase-positivos

- Condições de patogenicidade

- Microrganismo oportunista: precisa de uma lesão ou pelo uso de cateteres ou outros produtos médicos.

- Fatores de virulência

- Catalase – transforma o peróxido de hidrogênio (H₂O₂ – um microbicida) em O₂ e H₂O
- Biofilme – resistência à fagocitose e a alguns antibióticos. Filme hidrofóbico, adesivo aos biopolímeros.
- Não produz exotoxinas: mas causam infecções piogênicas.
- Produção de beta-lactamases: resistência a vários antibióticos.

- Diagnóstico

- Coloração de Gram e cultura
- Ágar sangue: colônias brancas não hemolíticas
- Antibiograma: sensível à novobiocina.

- Tratamento

- Vancomicina + rifampina e aminoglicosídeos

Bacteroides fragilis

- Manifestações Clínicas:

- Desequilíbrio da microbiota normal: Enterite, diarreia e abscessos (Principalmente em crianças <2 anos)
- LPSS sem atividade endotóxica considerável
- Não induz diretamente a sepse
- Infecções intra-abdominais devido a ruptura da parede abdominal: Perfurações cirúrgicas ou traumática, apendicite aguda, diverticulite, polimicrobianas por cocos anaeróbios
- Inflamações intra pélvicas sérias: Doença inflamatória pélvica, abscesso ovariano, alta mortalidade

- Condições de desenvolver patogenicidade:

- O principal é o rompimento da barreira da microbiota caindo na corrente sanguínea, o **maior risco em cirurgias**.

Klebsiella Pneumoniae

- Doenças: Pneumonia, ITU, e sépsis.

- KPC

- **Superbactéria - possui resistência a múltiplos antibióticos**
- A bactéria KPC pode ser encontrada em fezes, na água, no solo, em vegetais, cereais e frutas. A transmissão ocorre em ambiente hospitalar, através do contato com secreções do paciente infectado, desde que não sejam respeitadas normas básicas de desinfecção e higiene.

- Manifestações clínicas

- Febre, prostração, dores no corpo, tosse nos episódios de pneumonia.

- Enterococos faecalis

- Flora intestinal, oportunista, falta de higiene dos profissionais da saúde, ambiente hospitalar, pode causar bacteremia, meningite e ITU.

- Condições de patogenicidade

- O habitat consiste nos tratos respiratório superior e intestinal de humanos. O organismo é transmitido aos pulmões pela aspiração a partir do trato respiratório superior e pela inalação de gotículas respiratórias. É transmitido ao trato urinário pela disseminação ascendente da microbiota fecal.

- A endotoxina causa febre e choque associados à sépsis. Não há exotoxina conhecida. O organismo possui cápsula grande, que impede a fagocitose
- Doença pulmonar crônica predispõe à pneumonia; a cateterização predispõe a ITU.

Clostridium difficile

- **Doença:** Colite pseudomembranosa

- Condições de desenvolver patogenicidade:

- Contaminação se dá via fecal-oral, contato direto com esporos da bactéria
- Antibióticos suprimem a microbiota normal do cólon, permitindo maior crescimento de *C. difficile* e produção de grandes quantidades de exotoxinas. As exotoxinas A e B inibem GTPases, causando a inibição da transdução de sinal e a despolimerização de filamentos de actina, o que leva à apoptose e morte de enterócitos.

- **Características clínicas**

- Diarreia, dor abdominal e leucocitose em uma história de uso de antibióticos recente