

SEMINÁRIO DE MICROBIOLOGIA BÁSICA

BACTÉRIA: CLOSTRIDIUM

Alunos:

CAMILA ATAHYDE, DANIELA GRISI, ISABELA FERNANDES, LEANDRO DIAS, LUCINARA BECKER, LUISA BIAGIONI, MARIANA BARBOSA, MARIANA MATTOS, MARILIA DANTAS E NATALIA OLIMPIO.

Professor:

MÁRCIO DIAS.

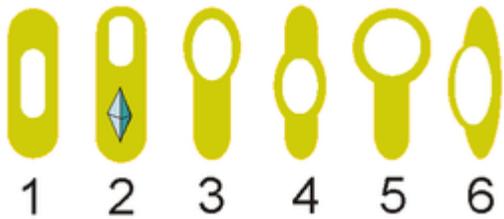
Gênero *Clostridium*

▶ Apresentam propriedades importantes:

- ❖ Presença de **endósporos**
- ❖ Metabolismo **anaeróbio estrito** (salvo algumas bactérias aerotolerantes)
- ❖ Estrutura da parede celular Gram-positiva

▶ A capacidade de *Clostridium* causarem doenças é atribuída à:

- ❖ Capacidade de sobreviver em condições ambientais adversas através da esporulação
- ❖ Rápido crescimento em um ambiente nutricionalmente enriquecido, desprovido de oxigênio
- ❖ Produção de diversas **toxinas** histolíticas, enterotoxinas e neurotoxinas.



Variação na morfologia dos endósporos. (1,4) Endosporo central, (2, 3, 5) Endosporo terminal, (6) Endosporo lateral

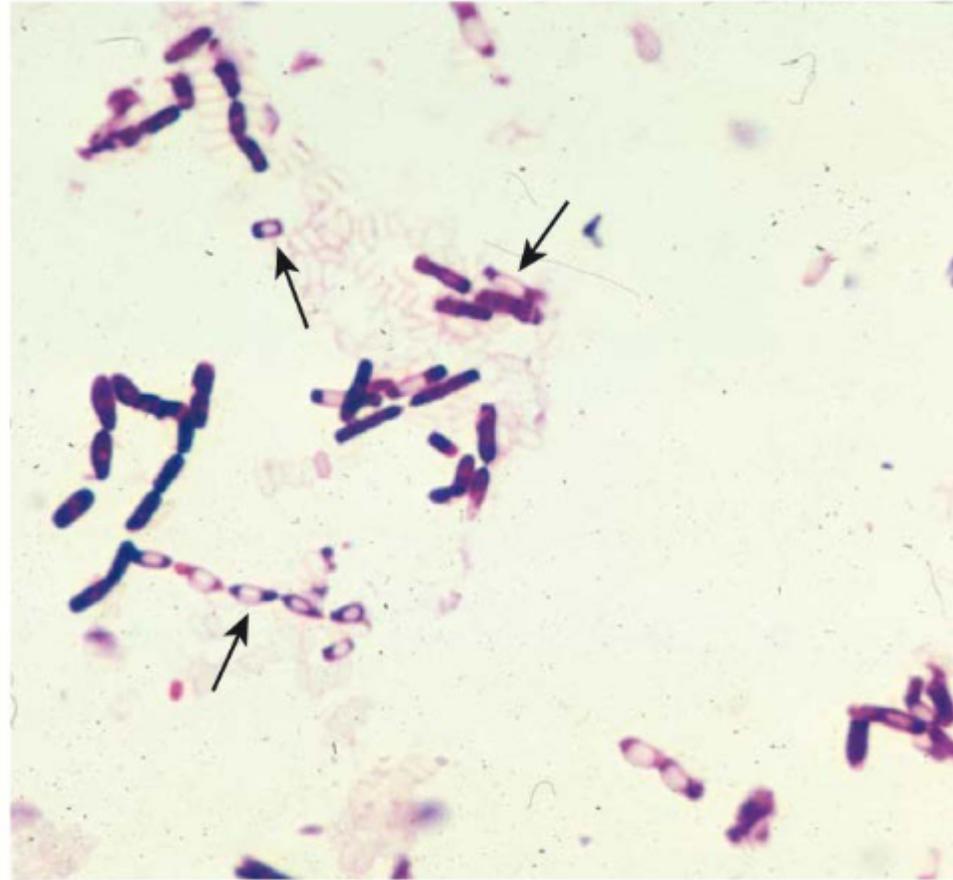
OBS: O₂ gera radicais livres que são extremamente deletérios. Um radical ao qual se dá grande importância é o anion super-óxido O₂⁻² porque é capaz de quebrar DNA, inativa muitas enzimas bacterianas e é extremamente tóxico para os lípidos da membrana. Portanto anaeróbios não possuem enzimas como, catalase, peroxidase, dismutase do super-óxido, que catalisam esses radicais livres.

Morfologia do micro-organismo

- ▶ Os bacilos Gram-positivos formadores de esporos são representados pelos gêneros *Bacillus* e *Clostridium*. Em virtude da sua capacidade de formar esporos podem sobreviver no meio ambiente por longos anos. As espécies *Bacillos* são aeróbias, enquanto que as *Clostridium* são anaeróbias.
- ▶ O gênero *Clostridium* é muito heterógeno pois tem mais de 190 espécies reconhecidas. Os Clostrideos provocam diversas doenças mediadas por toxinas, como a *C. difficile* (colite pseudomembranosa), o *C. tetani* (tétano), a *C. botulinum* (botulismo), a *C. perfringens* (grangrena gasosa). Outros clostrideos podem ser encontrados em infecções anaeróbios mistas em humanos.
- ▶ São bastonetes Gram-positivos grandes, anaeróbios e móveis. Muitos deles decompõem proteínas ou formam toxinas, ou ate mesmo fazem ambos os processos. Seu habitat natural é o solo ou o trato intestinal de animais e homens, onde vivem como saprófitos.
- ▶ Em sua morfologia, observa-se que os esporos de clostrideos são maiores que o diâmetro dos bastonetes nos quais se formam. Nas varias espécies, o esporo se localiza centralmente, subterminalmente ou terminalmente. Possuem em sua maioria, flagelos peritriquios.

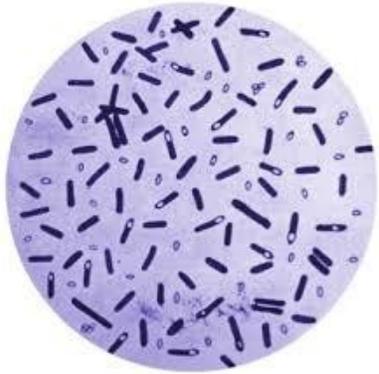
Morfologia do micro-organismo

- ❖ Espécie de *Clostridium* com esporos ovoides terminais. Muitos estão em forma de cadeia.

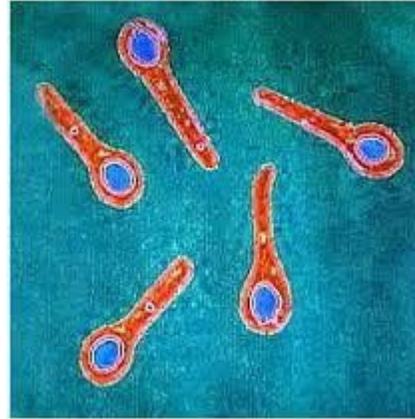


Morfologia do micro-organismo

Clostridium botulinum

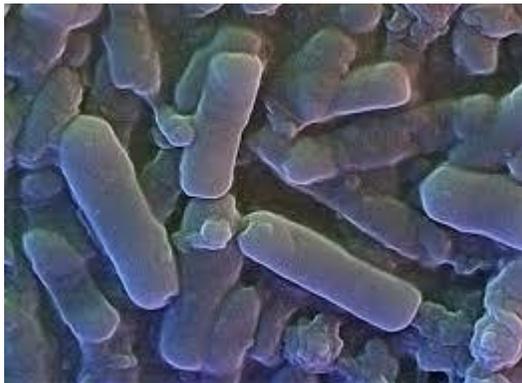


Clostridium tetani



Clostridium tetani

Clostridium perfringens

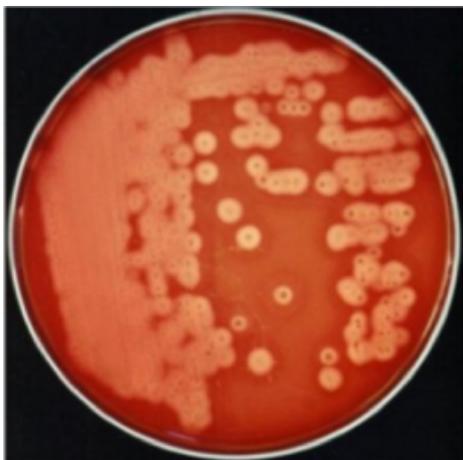


Clostridium difficile



Morfologia do micro-organismo

- ▶ Em geral, eles crescem em meios enriquecidos com sangue.
- ▶ Alguns clostrídeos produzem grandes colônias, como o *C. perfringens*. Já o *C. tetani* forma colônias menores. Outros podem formar colônias que se espalham sobre a superfície do ágar. Muitos clostrídeos produzem uma zona de B-hemólise em agar-sangue. O *C. perfringens* produz uma dupla zona de B-hemólise ao redor das colônias.
- ▶ Os clostrídeos são capazes de fermentar uma variedade de açúcares, e muitos deles podem digerir proteínas. Essas características de crescimento metabólicas, são usadas para dividir esses microrganismos em grupos sacarolíticos ou proteolíticos. O leite é acidificado por alguns clostrídeos e digerido por outros, e sofre fermentação tumultuosa (o coágulo é rompido pela ação do gás) pelo *C. perfringens*.



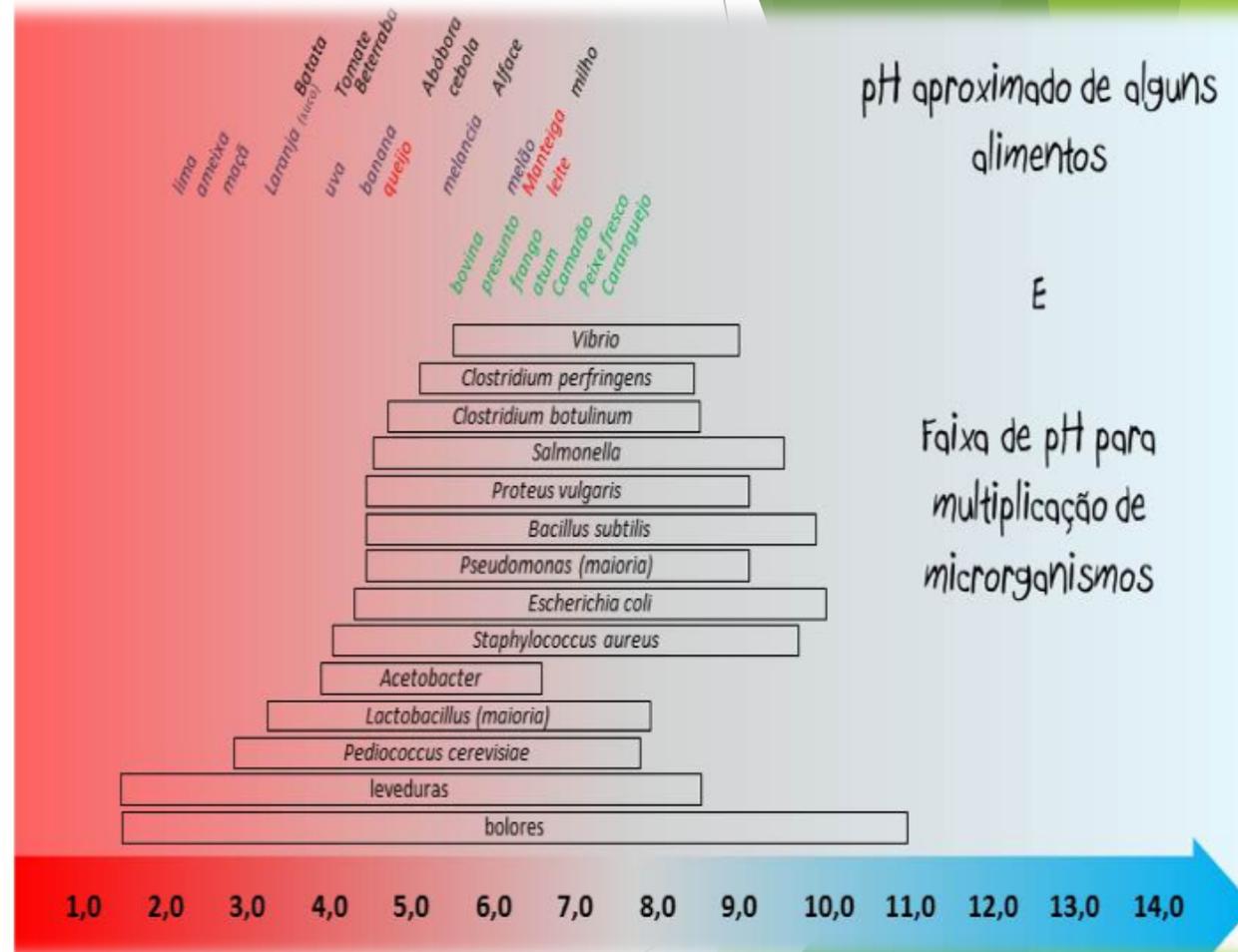
As colônias de *C. perfringens* podem apresentar um aspecto pleomórfico, sendo possível observar o halo interno de hemólise incompleta e a zona externa da hemólise completa.

(Fonte: http://fundacionio.org/img/bacteriology/img/clostridium_02.jpg,
Acedido em Janeiro de 2011)

Condições de Cultivo

- ▶ As bactérias do gênero *Clostridium* são **anaeróbios obrigatórios**; **se houver crescimento em ar**, será **pequeno e com esporulação inibida**. Metabolicamente, são muito diversos com temperatura ótima entre 10° C e 65° C, variando de espécie para espécie. A diferenciação é realizada em laboratórios especializados, pois as necessidades de crescimento e os testes a serem aplicados são diversos.
- ▶ *Clostridium tetani*: Gram positivas quando jovem, possuem **tendência em tornar-se Gram variável**. A sobrevivência do bastonete tetânico é favorecida pelo **pH neutro** ou levemente alcalino, **umidade de pelo menos 15%** e com **crescimento ótimo a temperatura de 37°C**. Difícil de cultivo, Os resultados de cultura bacteriana são positivos em apenas 30% dos pacientes com tétano.

Clostridium botulinum: Gram positivos, mas em cultivos velhos mostram-se Gram negativos. **Meios preparados com fígado promovem melhor crescimento**. São anaeróbios estritos, mas não são difíceis nas exigências culturais. Cresce melhor em torno dos 30°C e valor de pH entre 4,5 e 8,5. Além de atividade de água (**aw**) mínimo: **0,95**. Produção de lipase em ágar gema de ovo. Capacidade de digerir proteínas do leite, hidrolisar gelatina e fermentar glicose.



Condições de Cultivo



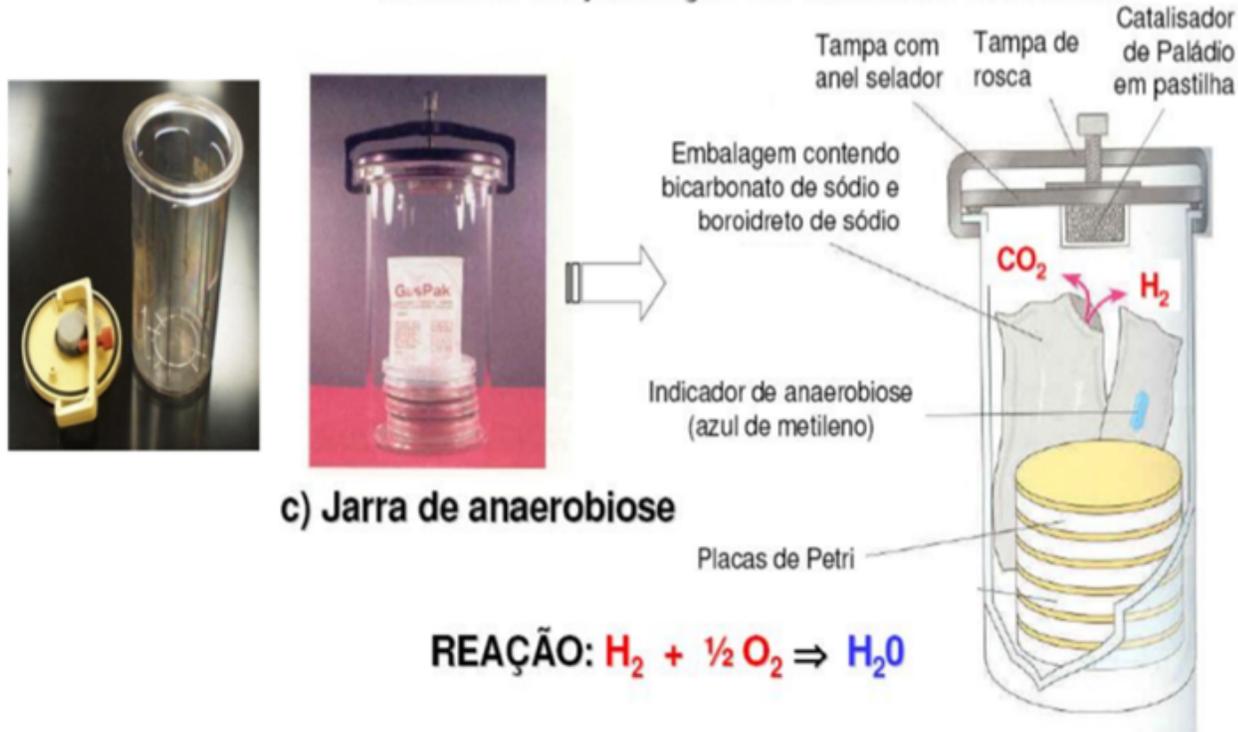
Clostridium perfringens:

- ▶ Não são formados em meio muito ácido; nos cultivos velhos torna-se pleomórfico. Gram positivos, mas tornam-se Gram variáveis com os subcultivos; Sua temperatura ótima de crescimento varia entre 43 e 47°C, sendo a espécie com maior velocidade de multiplicação, com tempo de duplicação inferior a 10 minutos; Valores de pH entre 6,0 e 7,0 e raramente esporulam, as condições alcalinas do intestino delgado que estimulam (6,0 e 8,0 de pH); Já para a atividade de água (aw) seu crescimento é entre 0,93 e 0,97.

Clostridium difficile:

- ▶ São bactérias presentes normalmente no trato gastrointestinal dos humanos, sofrem um crescimento excessivo com o uso de alguns antibióticos causando doenças. Sua temperatura ótima de crescimento é aproximadamente 37°C e em condições de pH aproximadas ao do nosso intestino (neutro $\pm 7,4$). O isolamento da bactéria em cultura de fezes documenta a colonização bacteriana, mas não a doença. Há a necessidade da detecção das toxinas (enterotoxina e citotoxina) através de diversos imunoenaios comerciais.

Métodos de produção de ambiente anaeróbio



Cultura de bactérias anaeróbias

É preciso utilizar um gerador de anaerobioses e cultivar as bactérias em uma jarra de anaerobioses adequada.

Fatores de Virulência

- ▶ Atributos físicos ou propriedades que permitem aos patógenos escaparem dos vários mecanismos de defesa do hospedeiro e causar doença.
- ▶ **Patogenicidade das bactérias:**
 - ❖ Principais fatores de virulência e mecanismos de patogenicidade de bactérias
- ▶ **Toxinas:**
 - ❖ Exotoxinas - Tetanospasmina = *Clostridium tetani*
 - ❖ Toxina botulínica = *Clostridium botulinum*
- ▶ Ambas são neurotoxinas.
- ▶ **Alvos bioquímicos das exotoxinas:**
 - ❖ *Ribossomos* - Mecanismos de transporte e sinalização celular Efeitos variam desde diarreia até a perda da função neural e morte

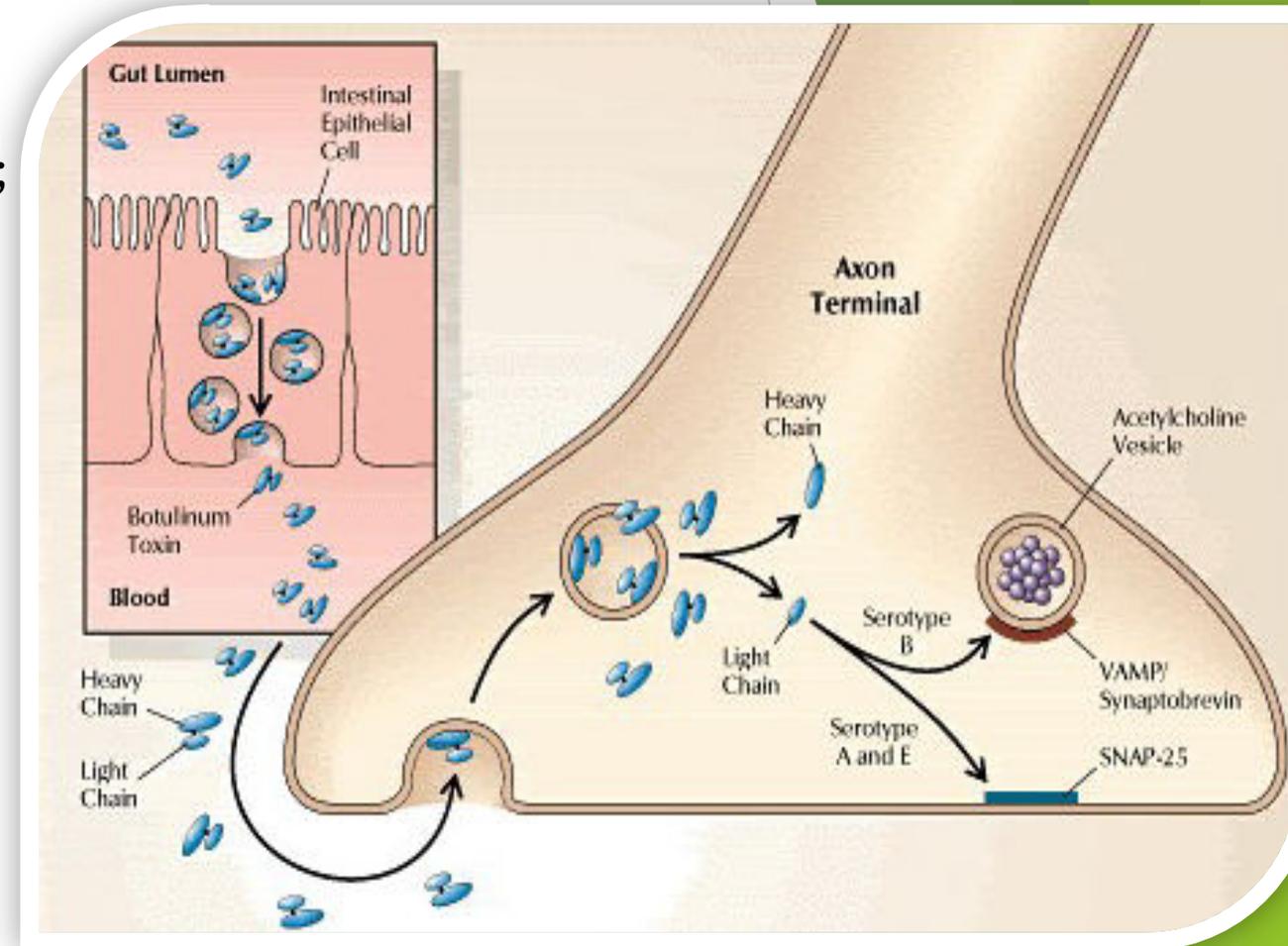
Fatores de Virulência

Clostridium botulinum

- ▶ FATORES DE VIRULÊNCIA: Toxina botulínica
- ▶ **Neurotoxina**: cadeia pesada (ligação e translocação);
- ▶ Cadeia leve (atividade enzimática);
- ▶ 7 tipos (A-G): A, B, E e F (humanos).



Botulinum Toxin Structure



http://www.losmicrobios.com.ar/microbios/?page_id=1249

<http://mariana34378.wix.com/toxinabotulinica#!toxina-botulinica>

Fatores de Virulência

Clostridium difficile

- ▶ **Toxinas:** tcdA (enterotoxina); tcdB (citotoxina).
- ▶ **Enteroxina**
 - ❖ produz quimiotaxia; induz a produção de citocinas com hipersecreção de líquidos; produz necrose hemorrágica).
- ▶ **Citoxina**
 - ❖ induz a despolimerização da actina com perda do citoesqueleto celular.
- ▶ **Fator de adesina**
 - ❖ medeia a ligação a células colônicas humanas.
- ▶ **Hialuronidase**
 - ❖ produz atividade hidrolítica.
- ▶ **Formação de esporos**
 - ❖ permite a sobrevivência durante meses em ambientes hospitalares.



Fatores de Virulência

Clostridium perfringens

Fatores de Virulência

- ❖ Toxina a
- ❖ Toxina b
- ❖ Toxina e
- ❖ Toxina i
- ❖ Toxina d
- ❖ Toxina q
- ❖ Toxina k
- ❖ Toxina l
- ❖ Toxina m
- ❖ Toxina n
- ❖ Enterotoxina
- ❖ Neuramidase

Atividade Biológica

Toxina letal; fosfolipase C (lecitinase); aumenta a permeabilidade vascular

Toxina letal; atividade necrosante

Toxina letal; permease

Toxina binária letal; atividade necrosante; adenosina difosfato (ADP)ribosilada

Hemolisina

Hemosilina termolábil e oxigênio-lábil; citolítica

Colagenase; gelatinase; atividade necrosante

Protease

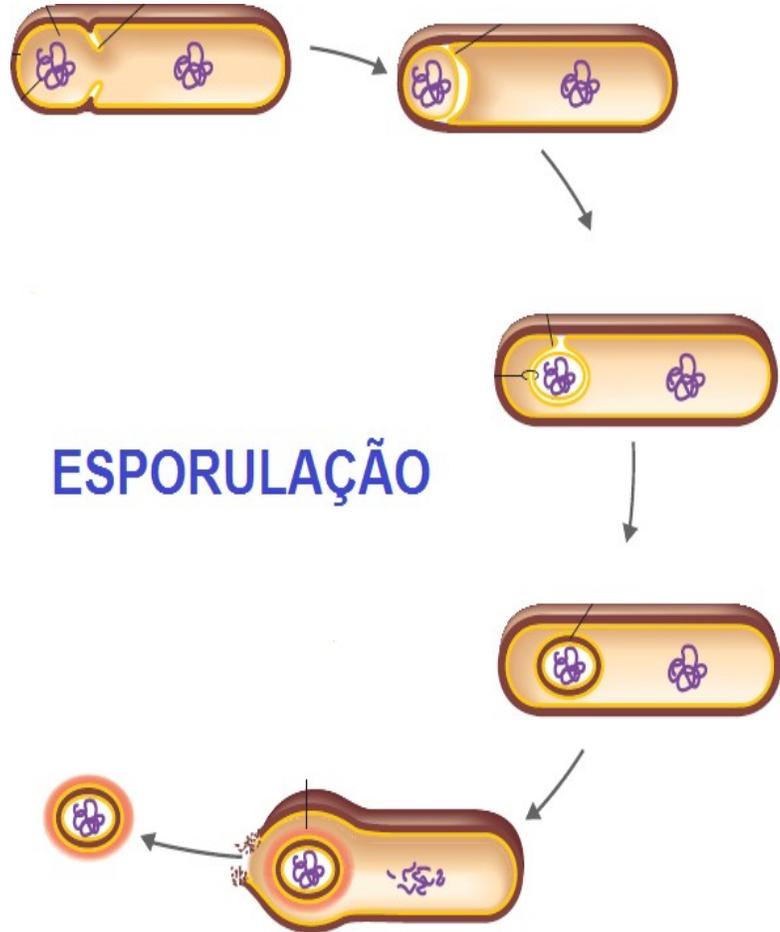
Hialuronidase

Desoxirribonuclease; hemolítica; atividade necrosante

Altera a permeabilidade da membrana (citotóxica, enterotóxica)

Altera os receptores de gangliosídios de superfície celular; promove trombose capilar

Mecanismos de Patogenicidade



- ▶ Cada espécie de clostrídio é caracterizada por possuir um determinado espectro de frações de toxinas com propriedades letais, necrosantes, hemolíticas, neurotóxicas.

▶ Esporos

- ▶ Os esporos bacterianos ou endósporos atuam como estruturas de sobrevivência quando a bactéria encontra-se em condições ambientais desfavoráveis. Eles são produzidos pela própria bactéria e encontram-se livremente em seu interior
- ▶ Os esporos podem permanecer viáveis por séculos. Eles são resistentes ao calor, desidratação, radiação e mudanças de pH.
- ▶ Quando as condições ambientais são favoráveis, o esporo absorve água até romper-se. Assim, ocorre a germinação, produzindo uma célula idêntica a célula parental.

Mecanismos de Patogenicidade

► *Clostridium botulinum*

❖ Produz 7 tipos de toxinas que atuam no sistema nervoso, porém só os tipos **A, B, E e F** causam doenças em humanos;

❖ As toxinas causam quatro tipos reconhecidos de enfermidades em humanos, incluindo botulismo alimentar, botulismo por feridas, colonização intestinal em adultos e botulismo infantil.

► *Ingestão da bactéria -> TGI -> Absorção no intestino delgado -> Transporte pelos nervos susceptíveis -> Bloqueio de neurotransmissores.*

► Uma vez absorvida, a toxina é transportada via hematogênica até neurônios sensíveis. As toxinas atuam nas junções neuromusculares, provocando paralisia funcional motora sem a interferência com a função sensorial. Os efeitos farmacológicos das toxinas acometem principalmente os nervos periféricos, os quais têm a acetilcolina como mediador. As toxinas ligam-se na membrana nervosa bloqueando a liberação da acetilcolina necessária para a excitação muscular, causando a paralisia flácida que evolui para a morte, devido à paralisia dos músculos respiratórios.

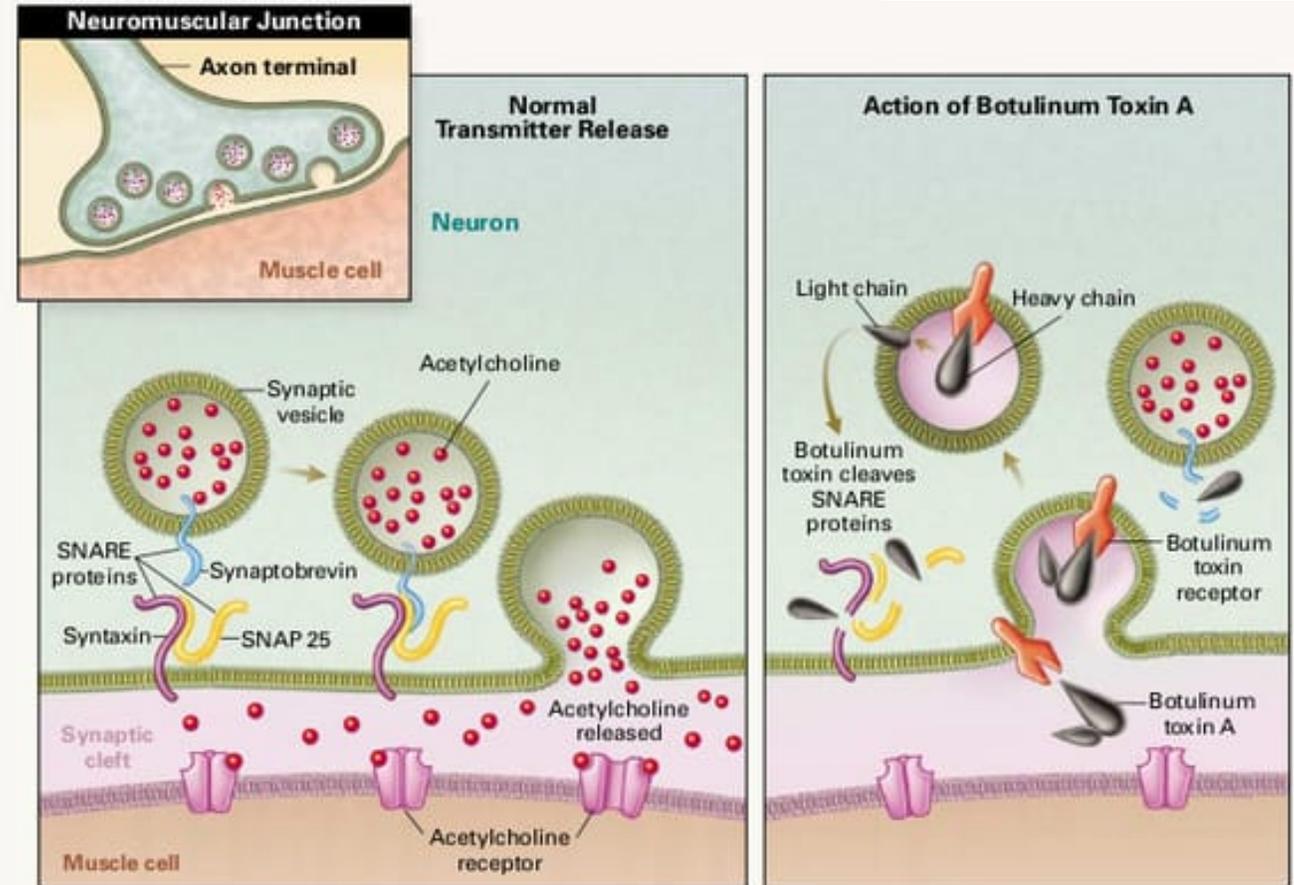


Figure 2: Mechanism of action of BoNTs (right) compared to the normal cell (left). Shown are the individual stages of BoNT intoxication, including cell surface recognition, vesicle internalization, translocation of the catalytic domain (light chain) into the cytosol, and proteolytic cleavage of one of the proteins of the SNARE complex. These steps lead to inhibition of neurotransmitter-containing vesicle release. BoNT/B, D, F, and G cleave proteins of the VAMP family (blue), and BoNT/A, C, and E cleave SNAP-25 (yellow). BoNT/C can also cleave syntaxin (purple). Figure taken from [2].

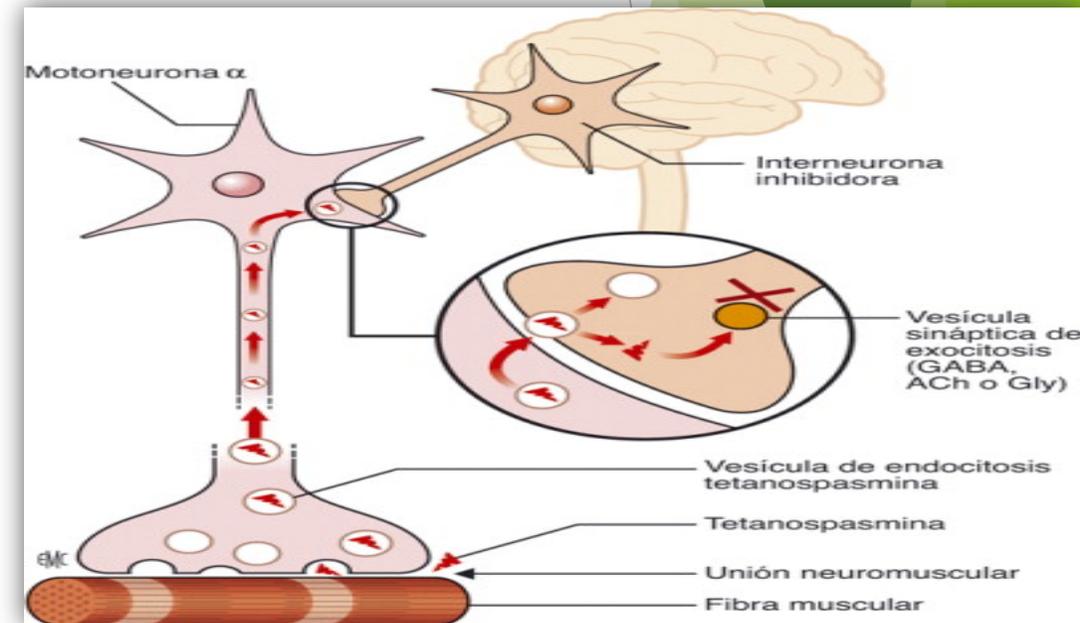
Mecanismos de Patogenicidade

Clostridium tetani

❖ Para a germinação, com o surgimento da forma vegetativa e a produção da toxina, são a **anaerobiose e o baixo potencial de oxidorredução**. Com efeito, a doença só ocorrerá na presença deste contexto, particularmente observado em feridas contendo tecidos desvitalizados ou necróticos, quando há presença de corpos estranhos ou infecção por outros microrganismos.

❖ Nos casos de tétano generalizado, a toxina atinge o sistema circulatório, sangue e linfa, disseminando-se para outros terminais nervosos. Os nervos mais curtos são primeiramente acometidos, o que permite explicar o acometimento sequencial da cabeça, tronco e, por último, das extremidades. No caso do tétano localizado e do tétano cefálico, somente determinados nervos são afetados, com espasmos musculares localizados.

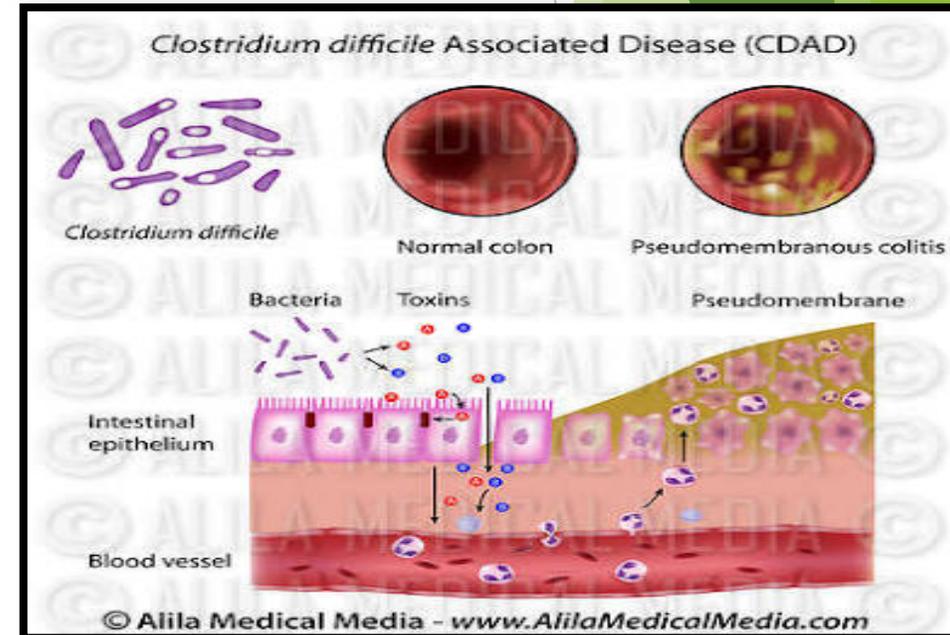
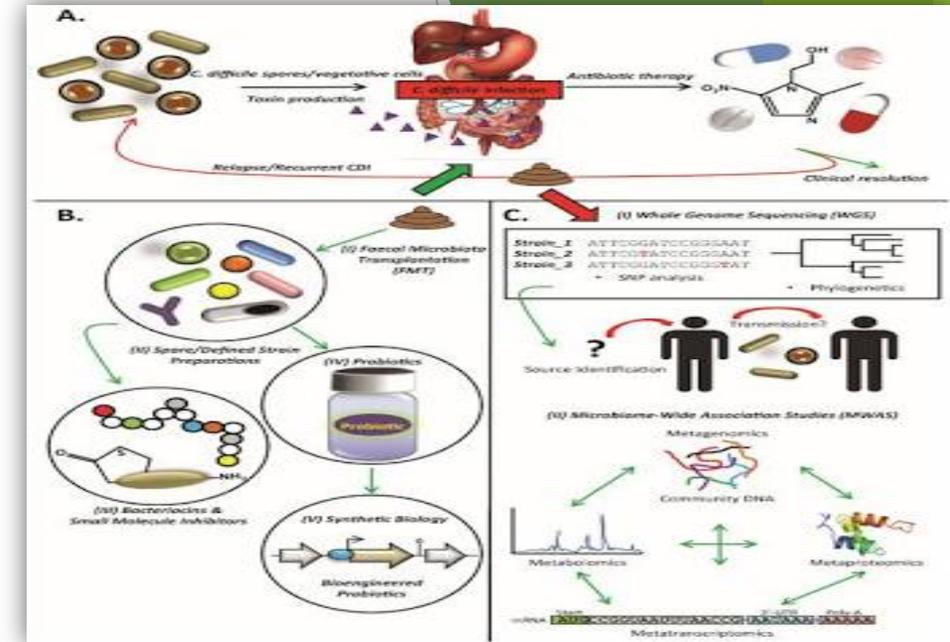
❖ A **tetanospasmina** é uma toxina produzida durante a fase estacionária de crescimento e é liberada na lise celular, sendo responsável pelas manifestações clínicas do tétano. A toxina é liberada no ferimento, acessando os terminais dos neurônios motores periféricos, caminhando pelo axônio, sendo levada até o sistema nervoso central, tronco encefálico e medula espinhal. As toxinas passam dos terminais sinápticos à membrana pré-sináptica, **na qual bloqueia a liberação de glicina e de ácido gama-amino-butírico (GABA), neurotransmissores inibitórios**. Há incremento da taxa de disparo, em repouso, dos neurônios motores, surgindo hiperreflexia e espasmos musculares. Pode, igualmente, ser observada a perda da inibição de neurônios simpáticos pré-ganglionares, com hiperexcitabilidade simpática e circulação de altos níveis de catecolaminas.



Mecanismos de Patogenicidade

Clostridium difficile

- ▶ Está naturalmente presente na flora intestinal (intestino grosso), e **não causam doenças a menos que se comece a produzir toxinas.**
- ▶ O *Clostridium difficile* produz duas toxinas denominadas de toxina A (enterotoxina) e toxina B (citotoxina). O modo de ação biológica dessas toxinas ainda é pouco compreendido, porém sabe-se que atuam na patogênese de doenças diarréicas associadas a antibióticos.
- ▶ O principal **fator de risco é a exposição aos antibióticos**, no entanto outros fatores associados à infecção por *Clostridium* são reconhecidos - *idade avançada, comorbilidades associadas, cirurgia gastrointestinal, presença de sonda nasogástrica, medicação anti-ácida e internação em unidades de cuidados intensivos.*
- ▶ A bactéria espalha-se através de esporos que deixam o organismo pelas eliminações da pessoa infectada. O contágio pode ocorrer por fômites e também através do ar.
- ▶ Esta bactéria não causa problemas a pessoas saudáveis, contudo, **alguns antibióticos utilizados para tratar outros problemas de saúde podem interferir com o equilíbrio da flora intestinal.** Quando isto acontece, a *C. difficile* pode multiplicar-se e produzir toxinas, causando sintomas de **Colite pseudomembranosa, uma inflamação do cólon causada pela bactéria.**
- ▶ Como estas infecções são geralmente causadas por antibióticos, a maioria dos casos ocorre em **ambientes de cuidados de saúde como hospitais, por exemplo.**



Mecanismos de Patogenicidade

Clostridium perfringens



Enterites por *Clostridium perfringens*

Agente	Espécies Acometidas	Período Crítico
<i>Clostridium perfringens</i> Tipo A	Todas	Não há
<i>Clostridium perfringens</i> Tipo B	Cordeiros	Neonatal à Desmama
<i>Clostridium perfringens</i> Tipo C	Bezerros, Cordeiros, Potros e Leitões	Neonatal à Desmama
<i>Clostridium perfringens</i> Tipo D	Caprinos, Ovinos e Bovinos	Confinamento
<i>Clostridium perfringens</i> Tipo E	Cordeiros, Bezerros e Coelhos	Desmama*

* Descrições de casos de infecção por *C. perfringens* Tipo E são muito raros

Fonte: McGavin, 2º

- ❖ Apresenta cinco tipos de esporos de A a E, classificados de acordo com as exotoxinas produzidas. Os tipos A, C e D são patogênicos para humanos.
- ❖ Uma das características mais importantes do *C. perfringens* é sua capacidade de multiplicação em altas temperaturas.
- ❖ Pode ser encontrada no solo, como um componente normal da vegetação apodrecida, em sedimentos marinhos, no trato intestinal de seres humanos.
- ❖ A dose infectante para que o *C. perfringens* possa causar a infecção alimentar em humanos é de 10^6 bactérias por grama ou a fração ingerida do alimento contaminado, causando **enterite** (quando presente e ingerida por meio de **alimentos contaminados**) e **gangrena gasosa**, quando afeta feridas expostas e cirúrgicas.
- ❖ As enterotoxinas A e C do *C. perfringens* são as responsáveis pelo quadro agudo de **diarreia**, característico das toxinfecções clostridianas. O tipo C é responsável pela **enterite necrótica**, doença grave e geralmente fatal, mas de ocorrência rara.

Manifestações Clínicas

Clostridium botulinum

- ▶ A toxina botulínica atinge o sistema nervoso, interferindo na sinapse (comunicação) entre as células nervosas. Assim, os sintomas de intoxicação por *C. botulinum* resultam da dificuldade na transmissão de estímulos nervosos, o que resulta em **paralisia**.
- ▶ A severidade dos sintomas está relacionada com a quantidade e também com o tipo de toxina ingerida.
- ▶ Os sintomas do botulismo alimentar passam geralmente por **fraqueza, perturbações na visão** (visão enevoada e ou dupla visão), **secura na boca, dificuldade em falar e em engolir**.
- ▶ Os sinais de paralisia são **progressivos** (sempre se manifesta de forma descendente e simétrica: da face, para o pescoço, membros superiores até membros inferiores)
- ▶ Pode provocar **paralisia da musculatura respiratória** e levar ao óbito, caso não receba a assistência adequada.



<https://www.grupounidas.com.br/padrao/botulismo/>

Manifestações Clínicas

Clostridium tetani

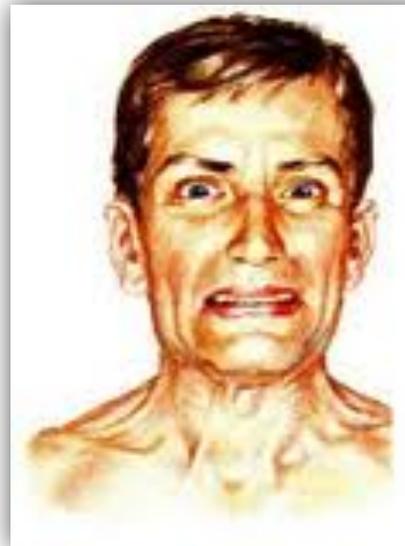
▶ Tétano acidental: Cefaleia, febre, dores musculares, principalmente no pescoço. É muito comum também a ocorrência do trismo (trincar dos dentes). Não sendo tratada, ocorre a **paralisa total dos músculos respiratórios**, levando a morte por asfixia.

▶ Tétano neonatal: choro constante, irritabilidade, dificuldade para mamar e abrir a boca, rigidez na nuca. Pode ocorrer febre baixa. Com o agravamento do quadro, o bebê para de chorar e há o aumento da **apneia** (ausência de respiração), podendo levar ao óbito.

TRISMO



Contrações musculares intensas e extremamente DOLOROSAS.



Manifestações Clínicas

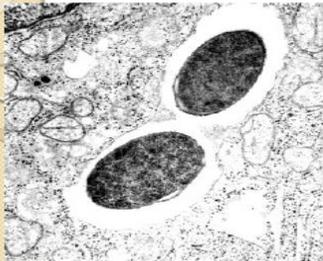
Enterite Necrótica



ilender
Soluciones que dan más

► *Clostridium perfringens*

- ❖ Forma clássica: sintomas causados pela cepa A, como **dores abdominais agudas**, **diarréia com náuseas** e **febre** (vômitos raros). Os sintomas aparecem entre 8 e 12 horas após a ingestão. Esta intoxicação é **branda** e raramente causa morte no indivíduo afetado;
- ❖ Forma grave: sintomas causados pela cepa C, **enterite necrótica** caracterizada por **dores abdominais agudas muito intensas**, **diarréia sangüinolenta**, **vômitos** e **inflamação necrótica do intestino delgado**. É raro acontecer, mas é fatal quando acomete um indivíduo. Forma também **gangrena gasosa**, quando afeta feridas expostas e cirúrgicas.



Clostridium perfringens 01



Clostridium perfringens 02



Clean wound



Gangrenous wound



Gangrena gasosa

Manifestações Clínicas

► *Clostridium difficile*

- ❖ Uma das principais manifestações clínicas das infecções por *Clostridium difficile* é uma **intensa diarreia aquosa** - pode chegar a **quinze ou mais evacuações por dia**
- ❖ Como decorrência da diarreia ocorre uma **severa desidratação**
- ❖ **Febre com leucocitose** e dores abdominais ocorrem numa certa percentagem de casos e pode preceder a diarreia.
- ❖ A colite fulminante é a pior apresentação possível, normalmente se manifestando como uma **sepse grave**, com **acidose láctica** e muita **dor abdominal**.
- ❖ Em alguns casos, há diminuição das evacuações à custa da evolução para **íleo paralítico**



Íleo paralítico ou obstrutivo



Transmissão

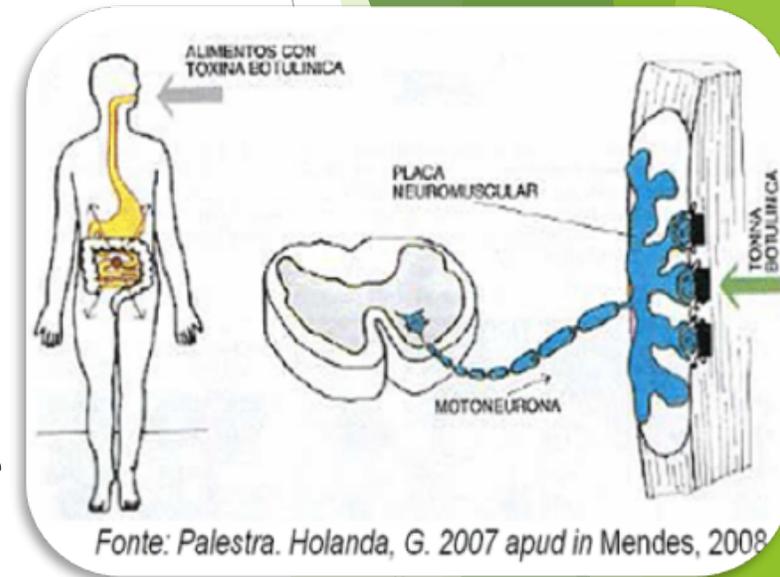
Clostridium perfringens

- ▶ Ingestão de alimentos contaminados por solo ou fezes e sob condições que permitam a multiplicação do agente.
- ▶ A maioria dos surtos está associada a carnes aquecidas ou reaquecidas inadequadamente.
- ▶ Esporos sobrevivem às temperaturas normais de cozimento, germinam e se multiplicam durante o resfriamento lento, armazenamento em temperatura ambiente e/ou inadequado reaquecimento.



Clostridium botulinum

- ▶ **Botulismo alimentar:** Se desenvolve em alimentos com baixo oxigênio e produz toxinas que são transmitidas através da ingestão. Entre os alimentos mais afetados, encontram-se vegetais enlatados (espinafre, feijão verde ...), conservas de atum ou peixe fermentado.
- ▶ **Botulismo infantil:** É causado pela colonização no intestino. A contaminação ocorre pela ingestão de mel ou de poeira com esporos da bactéria.
- ▶ **Botulismo de feridas:** A contaminação ocorre através de uma ferida aberta. Afeta principalmente as pessoas que usam drogas por seringas.

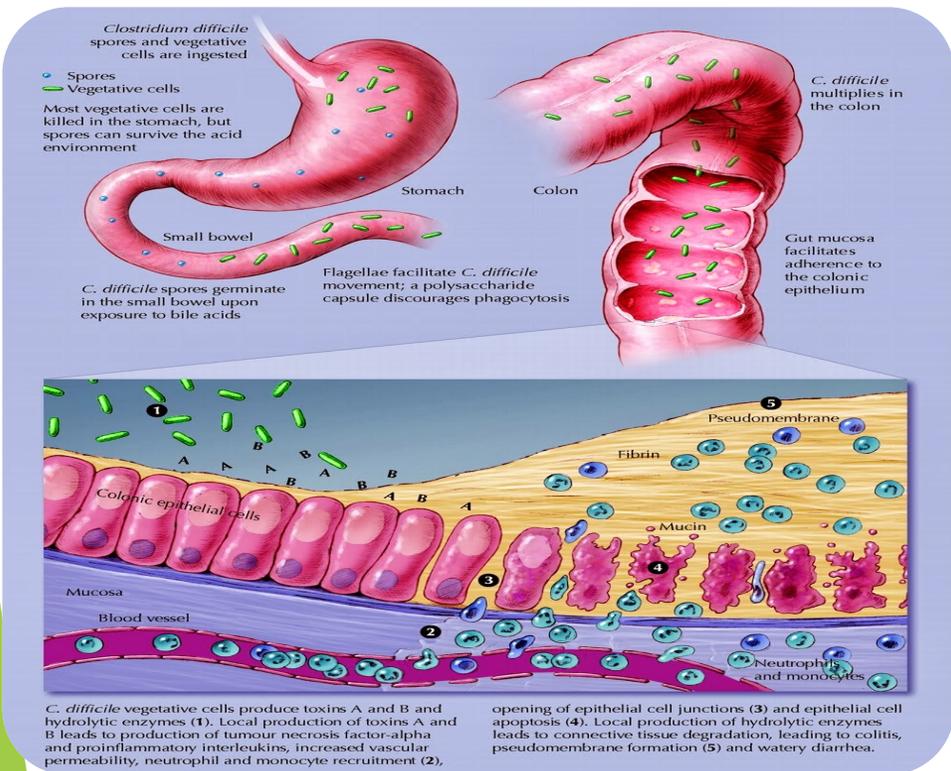


Transmissão

Clostridium difficile

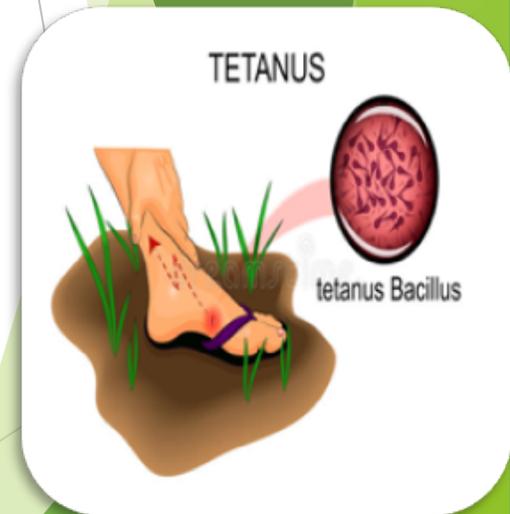
- ▶ A transmissão é fecal-oral, com fácil disseminação dos esporos libertados pelas fezes, através das mãos, das roupas, de dispositivos médicos e do ambiente circundante.

Os esporos conseguem manter a potencialidade infecciosa durante meses ou anos.



Clostridium tetani

- ▶ Ocorre pela introdução dos esporos da bactéria em ferimentos externos, geralmente perfurantes, contaminados com terra, poeira, fezes de animais ou humanas.
- ▶ O bacilo se encontra no intestino dos animais, especialmente do cavalo e do homem.
- ▶ Os esporos podem estar presentes tanto em solos contaminados por fezes ou com esterco, como na pele ou na poeira.
- ▶ Queimaduras e tecidos necrosados também são uma porta de entrada, o que favorece o desenvolvimento da bactéria.
- ▶ O tétano neonatal ocorre pela contaminação do coto umbilical por esporos do bacilo tetânico, que podem estar presentes em instrumentos sujos utilizados para cortar o cordão umbilical ou em substâncias pouco higiênicas usadas para cobrir o coto.



Epidemiologia

▶ *Clostridium difficile*

A prevalência vem aumentando no mundo inteiro, principalmente a partir dos anos 2000. Em muitos países, como Canadá e EUA, os casos mais do que dobraram. No Brasil os estudos sobre o tema são escassos, devido à pouca disponibilidade dos exames comprobatórios, sobretudo na rede pública.

▶ *Clostridium botulinum*

Ocorre em todo o mundo, acometendo principalmente povos que consomem enlatados caseiros e comidas conservadas.

▶ *Clostridium perfringens*

Ocorre mundialmente e principalmente em países onde as práticas de preparo de alimentos favorecem a multiplicação do *C. perfringens*. O *C. perfringens* tipo A é normalmente encontrado no trato intestinal de seres humanos e de outros animais e encontra-se amplamente distribuídos na água e no solo contaminados com fezes.

▶ *Clostridium tetani*

É de ocorrência mundial, sendo menos frequentes nos países de clima frio, com melhores condições socio-econômicas e onde medidas profiláticas por meio da vacinação da população foram tomadas.

Diagnóstico

- *Clostridium difficile*

- ▶ Aspectos clínicos
- ▶ Endoscopia e exames radiológicos
- ▶ Resultados laboratoriais
- ❖ Coprocultura
- ❖ Pesquisa de citotoxina
- ❖ PCR



COPROCULTURA:

<http://www.abcdesporto.blogspot.com/2009/08/coprocultura.html>

- *Clostridium perfringens*

- ▶ Detecção de toxina em fezes



- Kit Clostridium FirstTest™ e leitor ESE-Quant Lateral Flow
- Detecção e quantificação imediata dos níveis de *Clostridium perfringens* em fezes de frangos.

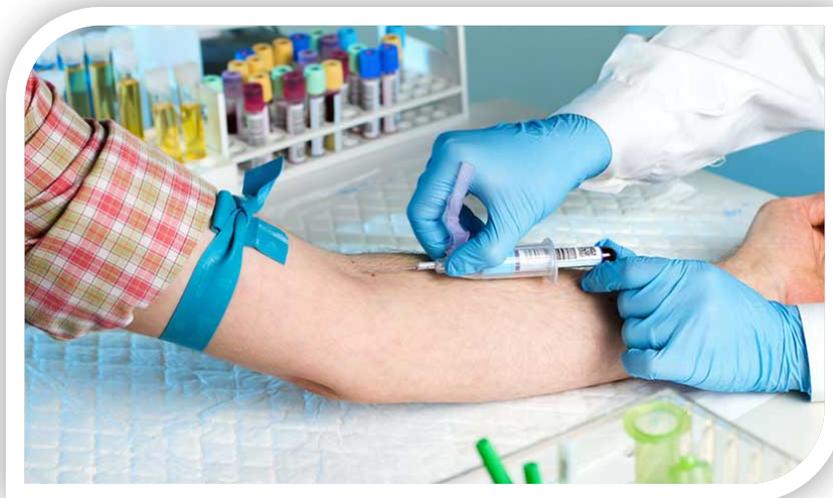
Diagnóstico

- *Clostridium botulinum*

- ▶ Exame físico
- ▶ Exames de sangue
- ▶ Exames de fezes
- ▶ Exames laboratoriais no alimento suspeito

- *Clostridium tetani*

- ▶ Exame físico
- ▶ Exames laboratoriais geralmente não são necessários



Tratamento

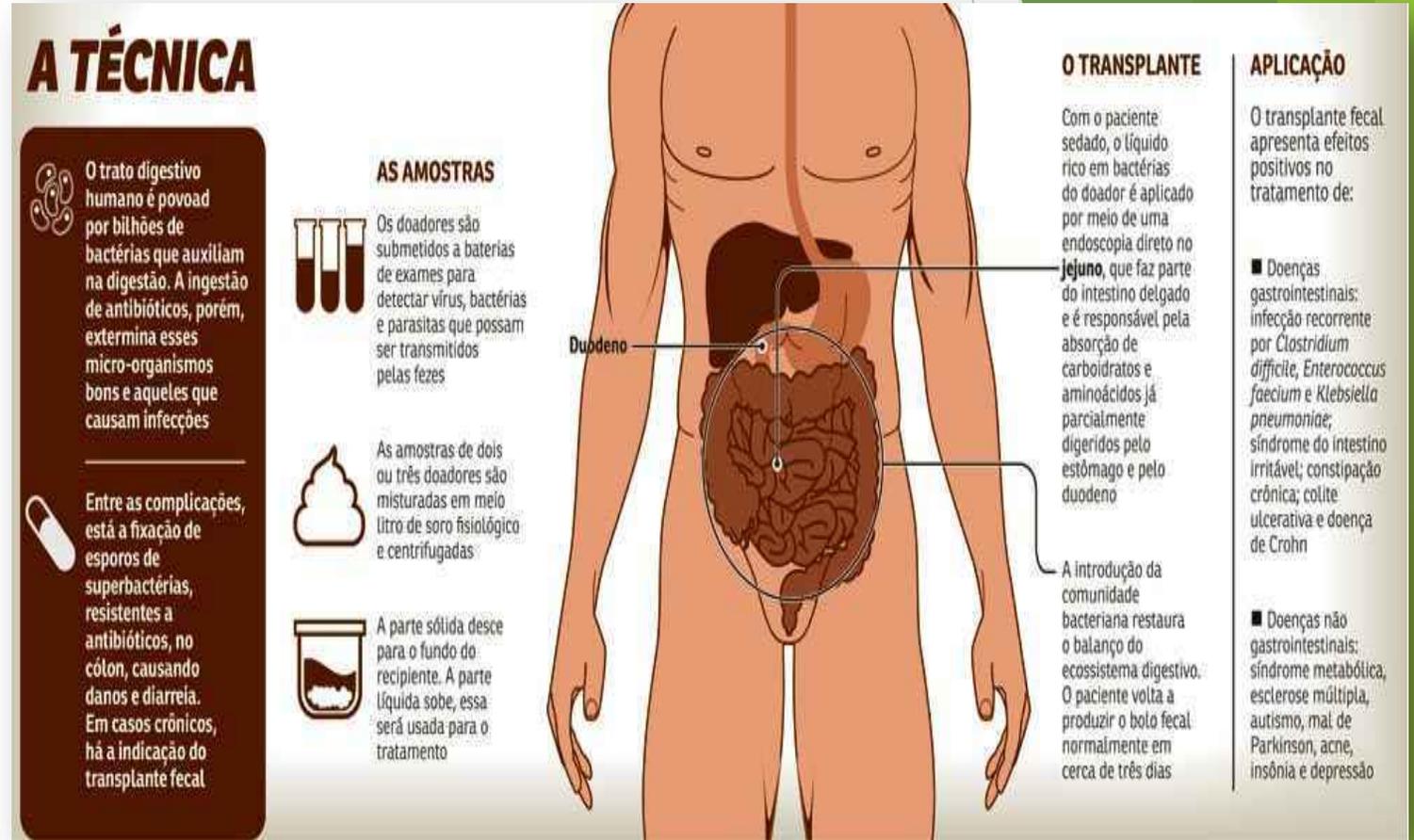
Clostridium difficile - Visão geral do tratamento

- ▶ Abordagem de tratamento depende da avaliação de gravidade
- ▶ Portadores assintomáticos não precisam de tratamento
- ▶ Para todos os adultos sintomáticos:
 - ❖ Antibioticoterapia: Fidaxomicina ou Metronidazol ou Vancomicina
 - ❖ Evitar agentes antimotilidade em todos os casos
 - ❖ Precauções de contato (avental e luvas) são recomendadas para todos os pacientes hospitalizados
 - ❖ Higiene das mãos
- ▶ Casos Graves: Cirurgia, anticorpos monoclonais, Probióticos (evidências insuficientes)



Transplante de Microbiota Fecal (TMF)

- ❖ Cientificamente relatado pela primeira vez em 1958.
- ❖ TMF começou a ser largamente estudado e incorporado na prática clínica apenas nos últimos dez anos.
- ❖ O TMF consiste em introduzir a microbiota intestinal de um doador saudável, em um paciente portador de ICD com o objetivo de restaurar a sua microbiota.
- ❖ O doador para esse tipo de tratamento geralmente é um familiar ou conhecido.
- ❖ Não há um consenso claro sobre a melhor forma de preparação das fezes. (MESSIAS et al., 2018)



Tratamento

► *Clostridium botulinum* - Visão geral do tratamento

- ❖ **Antitoxinas** contra três tipos de toxina botulínica (A, B e E).
 - ❖ Como o tipo responsável para cada caso costuma ser desconhecido, é necessário administrar imediatamente, por via endovenosa, a antitoxina trivalente (A, B, E) com as precauções habituais
- ❖ **A maioria das crianças se recupera apenas com o tratamento de suporte**, a terapia com antitoxina é recomendada.
- ❖ **Existe Antitoxina heptavalente** .
 - ❖ A antitoxina eqüina do botulismo fornece imunização passiva contra os diferentes serotipos da neurotoxina botulínica usando fragmentos de anticorpos policlonais derivados do plasma eqüino, que se ligam toxina botulínica na circulação evitando assim a internalização da toxina em células alvo.



Tratamento

- ▶ *Clostridium tetani* - Visão geral do tratamento
- ▶ Considerar: UTI (para monitoramento próximo e manejo das vias aéreas)
- ▶ princípios gerais de gestão incluem:
 - ▶ **parada da produção de toxina tetânica:**
 - ❖ fornecer cuidados adequados para feridas ou desbridamento
 - ❖ metronidazol ou penicilina procaína G ou penicilina cristalina aquosa G
 - ▶ **neutralização da toxina tetânica** circulante através da administração de **Imunoglobulina Antitetânica**
 - ▶ **controle de espasmos musculares e disfunção autonômica**
 - ❖ benzodiazepínicos (diazepam ou midazolam)
 - ❖ sulfato de magnésio (reduz tanto os espasmos musculares como a disfunção autonômica)
 - ❖ outras opções de medicamentos para o controle da disfunção autonômica:
 - ❖ Labetalol ou Morfina ou Clonidina ou Bupivacaína com Sufentanil
- ▶ Cuidados de **suporte necessários** durante a doença aguda e recuperação
- ▶ Durante a convalescença, iniciar ou continuar a **série primária de vacinação** com toxoide tetânico ou administrar dose de reforço



Tratamento

▶ *Clostridium perfringens* - Visão geral do tratamento

- ▶ O aspecto mais importante do tratamento:
 - ❖ **Desbridamento cirúrgico** da área acometida
 - ❖ **Administração de antimicrobianos**, em particular penicilina.
 - ❖ O **oxigênio hiperbárico** pode ser útil no tratamento clínico das infecções teciduais por clostrídeos. Afirma-se que ele tem a **propriedade de “destoxificar”** rapidamente os pacientes.
- ▶ Existem antitoxinas contra as toxinas de *C. perfringens*, *C. novyi*, *C. histolyticum* e *C. septicum*, geralmente na forma de imunoglobulinas concentradas.
- ▶ **Intoxicação alimentar** causada pela enterotoxina do *C. perfringens* geralmente só exige **tratamento sintomático**.

Desbridamento cirúrgico



<http://slideplayer.com.br/slide/8021015/>



Oxigênio Hiperbárico

<https://lazarolam berth.wordpress.com/tag/instituto-de-oxigenoterapia-hiperbarica-do-brasil/>

Desbridamento Cirúrgico



Figura 1: Extensão do desbridamento necessário para o controle da infecção inicialmente localizada no períneo (bartolinite). A foto mostra o paciente em posição de litotomia

(Cardoso JB, Féres O, 2007)

Câmara Hiperbárica



Controle da Doença

Clostridium difficile

- ▶ Higienizar as mãos
- ▶ Lavar alimentos
- ▶ Quarto individual para pessoas que estejam com a bactéria
- ▶ Cautela com o uso de antibióticos



Clostridium botulinum

- ▶ Higienizar as mãos
- ▶ Lavar alimentos
- ▶ Quarto individual para pessoas que estejam com a bactéria
- ▶ Cautela com o uso de antibióticos
- ▶ Cuidado com latas estufadas



Controle da Doença

Clostridium tetani

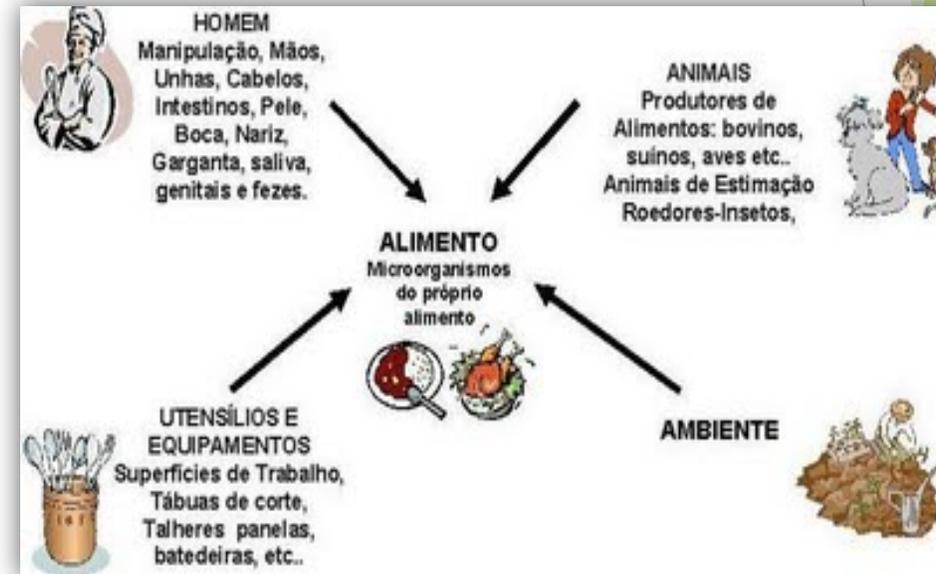
- ▶ Método mais eficaz a vacinação
- ▶ Higienização dos ferimentos

História de imunização prévia contra o tétano (número de doses da vacina)	Ferimentos pequenos, limpos e superficiais		Todos os demais ferimentos	
	TT	SAT	TT	SAT
Incerto ou < de 2 doses (*)	SIM	NÃO	SIM	SIM
Duas doses	SIM	NÃO	SIM	NÃO (1)
Três doses	NÃO (2)	NÃO	NÃO (3)	NÃO

http://www.vacinas.org.br/novo/vacinas_cont_ra_bact_rias_e_toxinas/t_tano.htm

Clostridium perfringens

- ▶ Educação dos manipuladores de alimentos
- ▶ Orientação de manipulação e preparo dos alimentos



<http://nutriarigronevalt.blogspot.com/2009/11/higienizacao-nas-areas-de-manipulacao.html>

Os Clostrídeos e a Odontologia

► O Botox, como é popularmente conhecido, é uma toxina produzida pela nossa bactéria (*Clostridium botulinum*), a mesma bactéria causadora do botulismo, mas a toxina botulínica industrializada é purificada e usada em doses que não causam a doença.

Além do **uso estético**, a toxina pode ser utilizada para o **uso terapêutico** no tratamento de **espasticidade disfuncional (rigidez muscular excessiva), distonias e espasmo hemifacial**.

Um método simples, rápido e em muitos casos efetivo **no tratamento do sorriso gengival é o uso da toxina botulínica**.

Pacientes nos quais a capacidade dos músculos faciais responsáveis por elevar o lábio superior durante o sorriso se encontra aumentada, têm indicação para tratamento com toxina botulínica. Outros fatores que tornam esta toxina um tratamento de primeira opção são o rápido e reversível efeito, com uma duração entre 3 a 5 meses. Em muitos casos, a toxina botulínica tem particular interesse quando os **pacientes pretendem submeter-se a um procedimento mais invasivo, como a cirurgia ortognática, mas desejam um rápido melhoramento estético enquanto o procedimento cirúrgico é planejado. Observa-se também uma melhora significativa nos sintomas de sialorreia.**

► Como funciona?

No caso de pacientes que possuem bruxismo, que consiste no ato de ranger e apertar os dentes durante o sono, a toxina botulínica pode melhorar seus sintomas aliviando dores de cabeça e relaxando os músculos da face.

O botox age no neurônio motor e impede a liberação de Acetilcolina que promove a contração da musculatura. Sendo assim, a aplicação da toxina nos músculos mastigatórios (temporal anterior e masseter) é essencial para o tratamento do bruxismo. Vale ressaltar que a aplicação do botox não garante cura, e o tratamento deve ser auxiliado com placas de mordida e a correção da mordida.



Os Clostrídeos e a Odontologia

- ▶ *C. tetani*: Na Odontologia, a alta prevalência de traumas dento-alveolares associada às lacerações dos tecidos moles adjacentes pode propiciar uma porta de entrada para os microrganismos. O primeiro sintoma que o paciente apresenta é o trismo. Devido a este quadro clínico o cirurgião dentista tende a ser o primeiro profissional a ser procurado no momento inicial da doença.
 - ▶ *C. difficile*: Em uma unidade de terapia intensiva deve-se seguramente assumir que esporos de *C. diff* podem ser encontrados em qualquer coisa que não tenha sido esterilizada ou limpa com um desinfetante de alto nível.
 - ▶ A taxa de aquisição de *C. diff* é estimada em 13% nos pacientes com internação de até duas semanas, e em 50% em pacientes com internação hospitalar por mais de quatro semanas.
 - ▶ Muitos antibióticos alteram o equilíbrio entre os tipos e as quantidades de bactérias presentes no intestino, permitindo dessa maneira a proliferação de determinadas bactérias patogênicas (que causam doenças). A bactéria que mais comumente causa problemas é o *C. diff*, que é responsável pela produção de duas toxinas que podem lesar o revestimento protetor do intestino grosso.
 - ▶ Os antibióticos que mais frequentemente causam esse distúrbio são a clindamicina, as penicilinas de amplo espectro e as cefalosporinas (p.ex., cefalotina). Outros antibióticos que podem causar o distúrbio incluem a eritromicina, o sulfametoxazol-trimetoprima, o cloranfenicol e as tetraciclinas.
- Lactobacilos e *Saccharomyces boulardii* estão disponíveis nas farmácias brasileiras. Diante da necessidade de se receitar antibióticos por longo prazo é de sem pensar melhor nas receitas.

Referências

- ▶ Cereser, N.D., Costa, F.M.R., Júnior, O.D.R., Silva, D.A.R.D., Sperotto, V.D.R. Botulismo de origem alimentar Cienc. Rural vol.38 no.1 Santa Maria Jan./Feb. 2008
- ▶ Gomes, A.P., Freitas, B.A.C.D., Rodrigues, D.C., Silveira, G.L.D., Tavares, W., Batista, R.S. Infecção por *Clostridium tetani* no recém-nascido: revisão sobre o tétano *neonatorum*. Rev. bras. ter. intensiva vol.23 no.4 São Paulo Oct./Dec. 2011.
- ▶ Pinto, U. Enfermidades Microbianas de Origem Alimentar . Nutrição USP [Internet]. 2017; 3-25. Available from: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/2881105/mod_resource/content/1/Aula%20%20Clostridium.pdf
- ▶ Rocha, M.F.G., Sidrim, J.J.C., Lima, A.A.M. O *Clostridium difficile* como agente indutor de diarreia inflamatória Rev. Soc. Bras. Med. Trop. vol.32 n.1 Uberaba Jan./Feb. 1999
- ▶ <http://www.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/doencas-transmitidas-por-agua-e-alimentos/botulismo.html>
- ▶ <https://www.quali.pt/microbiologia/476-clostridium-botulinum>
- ▶ <http://www.abc.med.br/p/sinais.-sintomas-e-doencas/578167/diarreia+por+clostridium+difficile+o+que+e+importante+sabermos.htm>
- ▶ <http://www.bio.fiocruz.br/index.php/tetano-sintomas-transmissao-e-prevencao>
- ▶ <https://www.portaleducacao.com.br/conteudo/artigos/farmacia/clostridium-perfringens/22451>
- ▶ <https://www.infoescola.com/doencas/tetano/>
- ▶ <http://files.bvs.br/upload/S/0047-2077/2014/v102n5/a4506.pdf> (Infecção pelo *Clostridium difficile*)
- ▶ <https://www.jaleko.com.br/public/apostila/1507567613-Clostridium.pdf> (Infecção por *Clostridium difficile*)
- ▶ <http://www.fisfar.ufc.br/petmedicina/images/stories/botulismo.pdf> (BOTULISMO)
- ▶ ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/hidrica/clostridium.pdf (CLOSTRIDIUM PERFRINGENS/INTOXICAÇÃO ALIMENTAR)
- ▶ <http://microbiologia.comunidades.net/clostridium-perfringer> (*Clostridium perfringer*)
- ▶ <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v7n1/a07v7n1.pdf> (O CLOSTRIDIUM TETANI E O TÉTANO)

Referências

▶ <http://arquivo.fmu.br/prodisc/medvet/ccp.pdf>

▶ https://www.nhs.uk/translationportuguese/Documents/Clostridium_difficile_Portuguese_FINAL.pdf

▶ <https://lifestyle.sapo.pt/saude/saude-e-medicina/artigos/clostridium-difficile-uma-grave-infecao-hospitalar>

▶ <http://www.saude.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=528>

▶ Kasper, L., D., Hauser, L., S., Jameson, Larry, J., Fauci, S., A., Longo, L., D., Loscalzo. (01/01/2017). *Medicina Interna de Harrison - 2 Volumes, 19th edição.*

▶ KATZUNG, Bertram, MASTERS, Susan, TREVOR, Anthony. (2017). *Farmacologia Básica e Clínica, 13th edição*

▶ BROOKS, F., G., CAROLL, C., K., BUTEL, S., J., MORSE, A., S., MIETZNER, A., T. (01/2014). *Microbiologia Médica*

▶ *de Jawetz, Melnick & Adelberg, 26th edição.*

▶ Cardoso JB, Féres O. GANGRENA DE FOURNIER. Med Ribeirão Preto [Internet]. 2007;40((4)):493-9. Available from: http://revista.fmrp.usp.br/2007/vol40n4/1_gangrena_de_fournier.pdf

▶ <http://www.bio.fiocruz.br/index.php/tetano-sintomas-transmissao-e-prevencao>

▶ ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/hidrica/clostridium.pdf

▶ http://www.gentside.com.br/botulismo/botulismo-sintomas-transmissao-prevencao-e-tratamento-o-que-e_art6647.html

▶ http://www.chln.pt/media/k2/attachments/GCLPPCIRA/norma_e_folheto_clostridium_difficile.pdf

▶ <http://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-329190>

▶ Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology's 2008 National Prevalence Study of *Clostridium difficile* in U.S. Healthcare Facilities, 2008.

▶ http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/255444/1/Tsuchiya_AnaClaudia_M.pdf

▶ <https://www.quali.pt/microbiologia/477-clostridium-perfringens>

▶ **Microbiologia médica - Murray 5ª edição**

▶ MESSIAS BA, FRANCHI BF, PONTES PH, BARBOSA DAAM, VIANA CAS. Fecal microbiota transplantation in the treatment of *Clostridium difficile* infection: state of the art and literature review. Rev. Col. Bras. Cir. [Internet]. 2018 [cited 2018 June 06]; 45(2): e1609. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-69912018000200300&lng=en. Epub May 24, 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-6991e-20181609>.