

## Grupo:

Carolina Zerbini

NUSP:10740210

Samuel Ribeiro Soares

NUSP:10787355

## Infecções estafilocócicas

As infecções estafilocócicas, ou estafilococcias, são um conjunto de doenças infecciosas causadas por bactérias pertencentes ao gênero *Staphylococcus sp.*, cujo comportamento comensal e/ou parasítico é comum em uma série de animais, incluindo os humanos. Bactérias desse gênero apresentam uma morfologia esférica, sendo caracterizadas ainda como gram-positivas, indicando a presença de uma parede celular simples e rica em peptidoglicanos, como a mureína. Em conjunto, *Staphylococcus* formam colônias com aspecto similar a “cachos de uva” e são capazes de obter nutrientes tanto de modo aeróbio quanto através da fermentação, ambos a partir de açúcares como a glicose, cujo subproduto ácido é excretado. A espécie mais frequentemente associada a patologias humanas é a *S. aureus*, cujas colônias possuem uma coloração amarelada e integram a microbiota humana, sendo abundantes no trato gastrointestinal/respiratório superior e pele, onde vivem como comensais em cerca de 30% dos indivíduos e não causam distúrbios. As estafilococcias, então, ocorrem quando há contato entre um indivíduo resistente a uma determinada cepa de *S. aureus* com outro indivíduo suscetível, desencadeando um quadro patológico.

Essa condição é caracterizada pela proliferação excessiva e invasão de diferentes tecidos, como no trato respiratório, urinário, digestivo e, principalmente, na pele, que leva a uma infecção com formação de pus. Os sintomas dessa forma de infecção podem incluir pneumonia, irritação e infecção de lesões cutâneas, além de artrite, meningite e osteomielite, formas menos comuns. Bactérias do gênero *Staphylococcus* podem se dispersar tanto pelo contato com pele colonizada quanto pelo ar, carregadas em partículas de poeira ou saliva, sendo resistentes a condições de seca e salinidade e, por serem parte da microbiota em condições fisiológicas. Dessa forma, podem haver diversos portadores potenciais de cepas patogênicas dessas bactérias em uma comunidade humana. Considerando tais características, infecções estafilocócicas podem ser confundidas clinicamente com outras infecções bacterianas, como as causadas por bactérias estreptococcicas, caso não haja a comprovação laboratorial da bactéria causadora da doença, ou treinamento adequado do grupo clínico.

Dentre os fatores mais proeminentes de virulência, pode ser citada a capacidade de *S. aureus* de formar biofilmes bacterianos, que auxiliam na defesa contra outros microrganismos e ao sistema imune do hospedeiro, além de proporcionar um microambiente mais favorável à proliferação da bactéria. A formação desses biofilmes é uma característica fundamental para a etiopatogenia das infecções estafilocócicas e é especialmente preocupante no contexto de biomateriais, como no caso de implantes e possíveis infecções associadas à adesão de biofilmes em suas superfícies. O agravamento de estafilococcias é amplamente auxiliado ainda por uma gama de fatores de virulência disponíveis às diferentes cepas de *S. aureus*. O primeiro deles é a produção de enzimas hemolíticas (hemolisinas), capazes de converter a fibrina (um forte atuante da coagulação e regeneração tecidual) em fibrinogênio, induzindo a formação de coágulos ao redor das colônias bacterianas. Essa deposição dificulta o acesso físico das células do sistema imune às bactérias, além de causar danos aos vasos sanguíneos.

Outro fator de destaque é a produção de leucocidinas, como PVL, LukAB/GH e LukED, cujas atividades levam à ativação não específica de células T, neutrófilos e fagócitos mononucleares. Essa ativação resulta na secreção exacerbada de proteínas citotóxicas, que levam à morte celular e destruição do endotélio dos vasos e áreas adjacentes às lesões cutâneas, auxiliando na capacidade piogênica característica das estafilococcias. *Staphylococcus aureus* produzem ainda outras enzimas capazes de degradar a matriz extracelular, formar poros na membrana de células do hospedeiro, além de contar com múltiplas proteínas estruturais capazes de induzir respostas inflamatórias, como os lipopolissacarídeos (LPS) que constituem sua membrana celular.

Algumas cepas de *S. aureus* são capazes de um efeito especialmente nocivo durante a trajetória de sua infecção em humanos conhecido como síndrome do choque tóxico (TSS), desencadeada pela presença e produção de exotoxinas como a TSS-1, que agem como superantígenos, estimulando o recrutamento massivo de componentes da imunidade celular como células TCD8+. Essa superestimulação da migração de leucócitos leva a uma ativação constante de vias inflamatórias agudas e dano tecidual descontrolado. Em conjunto com os mecanismos descritos anteriormente, a evolução deste quadro leva a um estado inflamatório crônico com sintomas como febre intensa, erupções cutâneas, diarreia, vômito, aumento da pressão arterial e comprometimento de funções cardíacas, que resultam ainda na falha da oxigenação e podem levar à falência de órgãos e óbito do hospedeiro.

O diferente padrão de expressão de enzimas e outras moléculas, como a TSS-1, então, se mostra responsável pela grande variedade de doenças que compõem a fisiopatologia de infecções por *S.aureus*. Considerando essa alta variedade genética e a possibilidade de

estudos clínicos, que permitem a identificação de padrões genéticos apresentados em diferentes quadros clínicos, é possível observar que, dependendo das moléculas expressas, diferentes quadros podem ser apresentados. Exemplos para tal relação são as proteínas A e a adesina rica em serina, expressa pelo gene *sraP*. Essas proteínas são relacionadas, respectivamente, a fisiopatologia da sepse e endocardite experimental, doenças completamente distintas e dependente de ligações também diferentes desses ligantes para ocorrerem.

O histórico do uso de antibióticos contra cepas de *S. aureus* remonta à famosa descoberta da penicilina por Alexander Fleming, sendo historicamente um organismo suscetível a todas as classes de antibióticos conhecidas. A facilidade de combate a essa bactéria, devido a sua vulnerabilidade, e o uso indiscriminado de antibióticos decorrentes disso levaram, no entanto, à seleção de cepas resistentes, com a primeira cepa resistente à penicilina aparecendo ainda em meados da década de 1940. Além da seleção artificial, o aparecimento de cepas resistentes a antibióticos B-lactâmicos estruturalmente similares à penicilina, como a meticilina, e à vancomicina, se deve também à transferência horizontal de genes de resistência presentes em outros organismos, um mecanismo intimamente relacionado à prevalência das infecções estafilocócicas em ambientes hospitalares. Locais como esse podem abrigar outras bactérias sabidamente resistentes a essas classes de antibióticos e, assim, serem fontes de transmissão horizontal de plasmídeos contendo genes de resistência, que são rapidamente incorporados por cepas de *S. aureus*.

Dentre as cepas de *S. aureus* resistentes, destacam-se a MRSA (methicillin resistant *S. aureus*) que pode ser subdividida em cepas de origem hospitalar (HAMRSA) e comunitária (CA-MRSA), sendo essa última a de maior preocupação pelos aumentos significativos de taxas de prevalência e incidência nas últimas décadas em todos os continentes. Cepas de CA-MRSA apresentam uma virulência maior do que cepas comuns, ocasionando quadros de fasciite necrosante (necrose agressiva do tecido subcutâneo) e necrose pulmonar. Cepas MRSA são portadoras do gene mutante *mecA*, que codifica uma proteína de baixa afinidade por penicilina (PBP2a) e, ao contrário das enzimas penicilinase encontradas nas primeiras cepas resistentes, não confere resistência pela clivagem e inativação dos anéis B-lactâmicos. Ao invés disso, PBP2a, uma proteína que participa da síntese da parede celular de *S. aureus*, tem modificações estruturais que a tornam pouco suscetível à inibição por B-lactâmicos.

Em função dessa resistência crescente a antibióticos convencionalmente eficazes contra *S. aureus*, o tratamento para estafilococcias passou, ao final da década de 1970, a ser conduzido com o uso de vancomicina, um fármaco que age bloqueando a incorporação de

peptidoglicanos à estrutura da parede celular bacteriana, levando a uma morte celular por pressões osmóticas. Novamente, o uso indiscriminado desse fármaco, um dos poucos antibióticos confiáveis para o tratamento de estafilococcias graves, levou à seleção de cepas com resistência moderada à vancomicina (VRSA). A propagação de cepas resistentes tanto à vancomicina quanto à meticilina fora do ambiente hospitalar representa uma ameaça considerável à saúde pública, já que infecções por *S. aureus* resistentes são cada vez mais a norma entre os casos observados.

Em áreas afetadas por CA-MRSA, o tratamento padrão por meio de antibióticos continua sendo o uso de vancomicina, daptomicina e linezolid, fármacos que ainda tem eficácia comprovada contra cepas MRSA, apesar dos riscos nefrotóxicos que o uso estendido desses fármacos apresenta para o paciente. Os agentes orais clindamicina, doxiciclina e minociclina ainda são orientados para os casos de infecções cutâneas e em tecido mucoso, bem como o uso combinado com outras drogas como a rifampicina. No caso de abscessos subcutâneos, a intervenção cirúrgica e drenagem ainda são as práticas mais recomendadas em casos graves de longa data ou de rápida progressão.

Devido ao contínuo aparecimento de cepas resistentes de *S. aureus*, o desenvolvimento de drogas derivadas da vancomicina, como telavancina, dalbavancina e oritavancina, é promissor e pode apresentar alternativas mais eficientes no combate a estafilococcias severas. Fármacos pertencentes a outras classes de antibióticos, como cefalosporinas capazes de se ligar à proteína mutante PBP2a já foram desenvolvidas, mas seu amplo espectro de atuação é uma preocupação no que diz respeito à seleção de cepas resistentes e novas alternativas de maior especificidade ainda são o alvo de pesquisas recentes. Em paralelo, tratamentos e prevenções alternativas, como o desenvolvimento de vacinas anti-estafilocócicas, são considerados como opções futuras no enfrentamento de *S. aureus*, mas suas aplicações ainda estão distantes. Atualmente, recomenda-se o uso com parcimônia dos recursos antibióticos disponíveis, a fim de estancar o aparecimento de novas cepas resistentes, pelo menos até que alternativas mais eficazes e que causem menores pressões seletivas para resistência estejam disponíveis. O estudo das propriedades biológicas das cepas de *S. aureus* resistentes a antibióticos, como a MRSA e a VRSA, abrangem diferentes áreas da microbiologia, que variam desde o estudo genômico do fluxo gênico entre cepas até o monitoramento da dispersão e aparecimento de novas cepas de interesse. Juntamente a esses esforços, o desenvolvimento de novas estratégias de contenção, combate e prevenção de estafilococcias é de grande importância para aplicação de medidas futuras. Para isso, são empregados diferentes modelos biológicos, majoritariamente centrados no uso de

roedores e nematódeos, como camundongos e *C. elegans*, para teste de novas drogas e avaliação de seus efeitos fisiológicos. No entanto, outros modelos como o zebrafish são promissores em função de sua transparência óptica, que possibilita a visualização dos órgãos internos *in vivo*, a alta homologia que apresentam em relação ao humanos e o fato de seu genoma ser completamente sequenciado e possuir grande similaridade com os análogos humanos em termos de relação hospedeiro-patógeno e de genes relacionados à progressão da infecção. O baixo custo relativo e a facilidade de manipulação das larvas de zebrafish estão também entre as vantagens que esse modelo tem a oferecer no entendimento de estafilococcias.

Em relação à resposta imune do indivíduo, temos que a infecção estafilocócica tem grande parte de seus mecanismos de evasão da resposta direcionados ao escape da ação de neutrófilos, leucócitos parte da defesa inata dos organismos. Essas células são importantes pois grande parte das infecções estafilocócicas ocorrem através de infecções cutâneas, onde a bactéria adentra as barreiras naturais do indivíduo por machucados ou uso de agulhas e objetos perfuro-cortantes, ou suas mucosas. Tais características fazem infecções por *S. aureus*, por exemplo, serem bastante comuns em ambientes hospitalares, o que representa uma grande preocupação epidemiológica pelo aparecimento de bactérias resistentes a uma grande gama de antibióticos, como a MRSA, ou *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina.

Pode-se assinalar a importância de neutrófilos para a resposta imunológica contra bactérias pois, além de seu papel citotóxico, essas células também atuam em conjunto com a defesa adaptativa, compondo uma resposta de padrão chamado Th17, depende de linfócitos Th para se desenvolver, possuindo então um padrão mais direcionado - o que é possível dado ao padrão de citocinas sinalizadoras que são expressas pelas células do sistema imunológico após a identificação da bactéria patogênica, como a IL-17A e a IL-22.

Ainda considerando a resposta do indivíduo contra esse patógeno, é importante considerar o papel de anticorpos neutralizantes e do sistema complemento, que atuam se ligando à moléculas específicas na superfície da bactéria e, com isso, podem sinalizar para células como CD8+, macrófagos e mesmo neutrófilos para que haja a eliminação do patógeno, por exemplo. A fagocitose dessas bactérias é possível graças a presença de receptores Fcy nessas células do sistema imune, que conseguem reconhecer opsoninas, ou moléculas neutralizantes e sinalizadoras, facilitando o processo de eliminação do patógeno.

Apesar de toda a resposta imune montada e direcionada, essas bactérias possuem mecanismos de evasão bastante complexos que possibilitam que a infecção se instale nos

organismos. Um exemplo seria a secreção da proteína CHIP, que se liga às moléculas C5a do sistema complemento e, assim, evitam que haja a opsonização da bactéria, que então consegue escapar da resposta imune. A proteína A, expressa na superfície bacteriana, também atua de modo similar, evitando que haja a sinalização do patógeno para o sistema imunológico, através da ligação com a porção Fc dos IgGs secretados pela resposta adaptativa, dependente então de LT e LB. Sem essa porção de reconhecimento livre, tais anticorpos não são mais funcionais. Essa proteína ainda atua se ligando aos domínios Vh3 de IgMs, levando a ativação de mecanismos apoptóticos em células B, importantes para a defesa e secreção de anticorpos. Em relação a fagocitose, bactérias estafilocócicas podem secretar leucotoxinas, como as PVL (LukF-PV/LukS-PV), que são capazes de causar danos aos leucócitos, e evitar assim que ajam contra as bactérias. Além disso, essas bactérias conseguem secretar fatores como o ClfA, que auxiliam na formação de estrutura de biofilmes e possibilitam, então, um maior escape do sistema imunológico do organismo que está sendo invadido.

#### Bibliografia:

1. Powers, Michael E., and Juliane Bubeck Wardenburg. "Igniting the fire: Staphylococcus aureus virulence factors in the pathogenesis of sepsis." *PLoS pathogens* 10.2 (2014): e1003871.
2. Chambers, Henry F., and Frank R. DeLeo. "Waves of resistance: Staphylococcus aureus in the antibiotic era." *Nature Reviews Microbiology* 7.9 (2009): 629-641.
3. Spaan, Andrés N., et al. "Neutrophils versus Staphylococcus aureus: a biological tug of war." *Annual review of microbiology* 67 (2013): 629-650.
4. Iwatsuki, Keiji, et al. "Staphylococcal cutaneous infections: invasion, evasion and aggression." *Journal of dermatological science* 42.3 (2006): 203-214.
5. Madigan, Michael T., et al. *Brock Biology of Microorganisms*. Pearson, 2018.
6. Rasheed, Sari, et al. "Zebrafish: An Attractive Model to Study Staphylococcus aureus Infection and Its Use as a Drug Discovery Tool." *Pharmaceuticals* 14.6 (2021): 594.