



Instituto de Ciências Biomédicas USP
ICB/USP - Departamento de Microbiologia



Prof. Elisabete Vicente
bevicent@usp.br

Cocos Gram-positivos

Streptococcus

1. Identificação Cocos Gram-positivos
2. Bactérias do gênero *Streptococcus*
 - 2.1. Características gerais
 - 2.2. Classificação dos *Streptococcus*
 - A) Pelo padrão de hemólise
 - B) Por sorologia do tipo de carboidrato C presente na superfície celular
3. Principais espécies de *Streptococcus*
 - 3.1. *Streptococcus pyogenes*
 - Fatores de virulência
 - Doenças
 - 3.2. *Streptococcus agalactiae*
 - 3.3. *Streptococcus pneumoniae*
 - 3.4. *Streptococcus mutans*
4. Questões para Estudo e Revisão do Entendimento

1. Identificação de cocos Gram-positivos

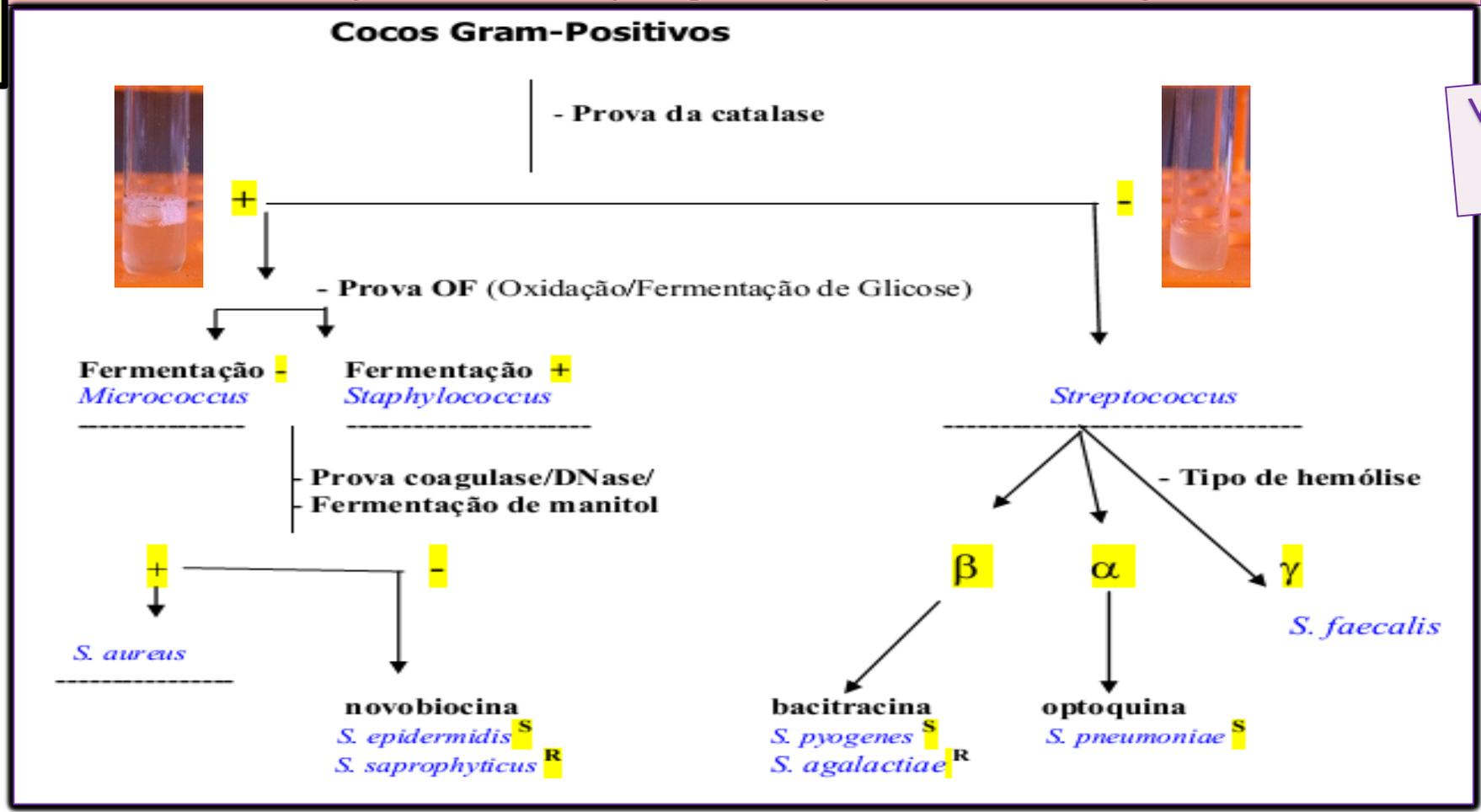
Identificação/
Etapa 1 –
Morfologia:

A identificação destas bactérias se inicia pela observação ao **Microscópio Óptico (M.O.)** de células coradas pela técnica de Coloração de Gram de que são

cocos Gram-positivos (CGP)

Identificação/
Etapa 2 – Provas
Bioquímicas:

Provas bioquímicas empregadas para Identificação de CGP



Vamos lá ver como se faz cada uma destas provas.. 

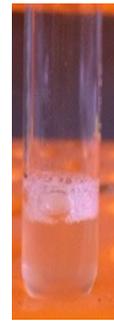
Identificação/
Etapa 2 – Provas
Bioquímicas:

1. Prova Bioquímica 1: Catalase

Para a separação de *Staphylococcus* e *Micrococcus* de *Streptococcus*

cocos Gram-positivos
(CGP)

- Catalase é uma enzima que promove o
desdobramento da H_2O_2 em H_2O e O_2 ↑



+

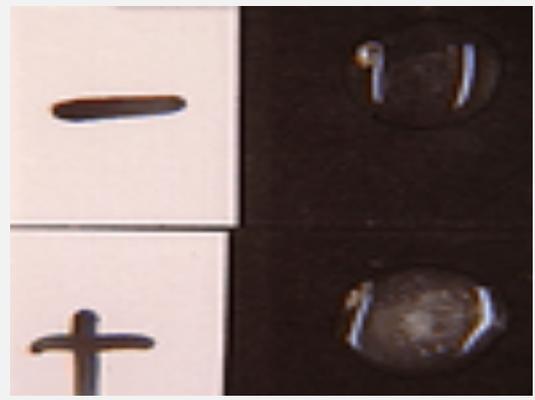
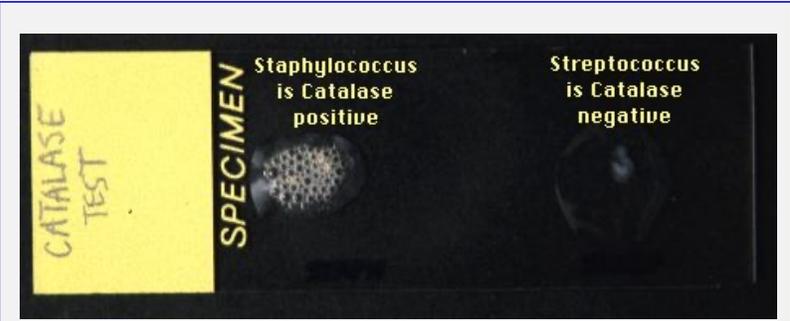
-



Prova da Catalase em tubos de cultura

Staphylococcus e *Micrococcus*
são
catalase positiva

Streptococcus
são
catalase negativa



A Prova da Catalase também pode ser feita em lâminas.

Então vamos conferir o que já sabemos...

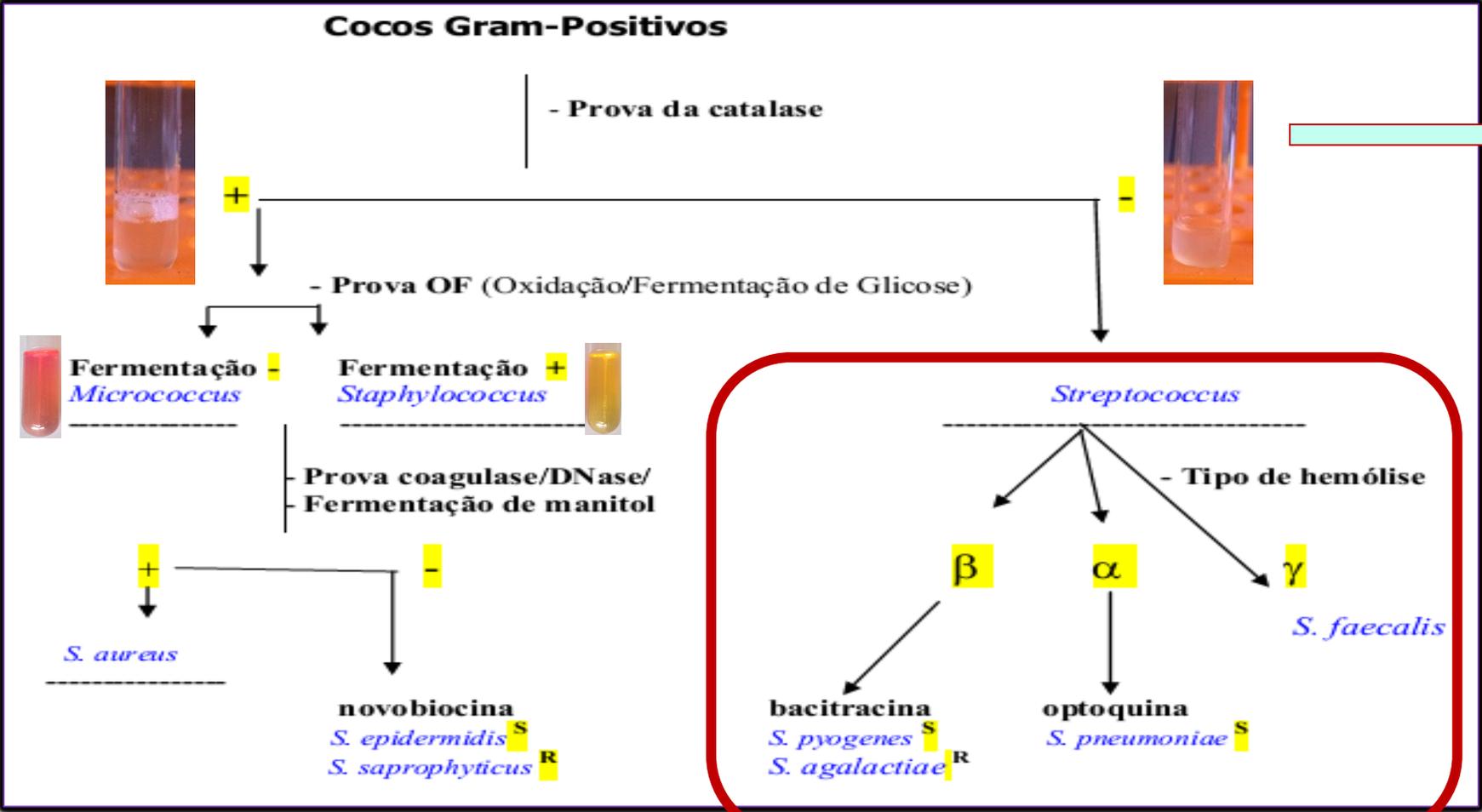


Identificação/
Etapa 1 – Morfologia:

cocos Gram-positivos (CGP)

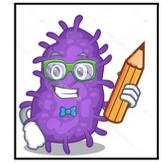
Identificação/
Etapa 2 – Provas Bioquímicas:

Provas bioquímicas empregadas para Identificação de CGP

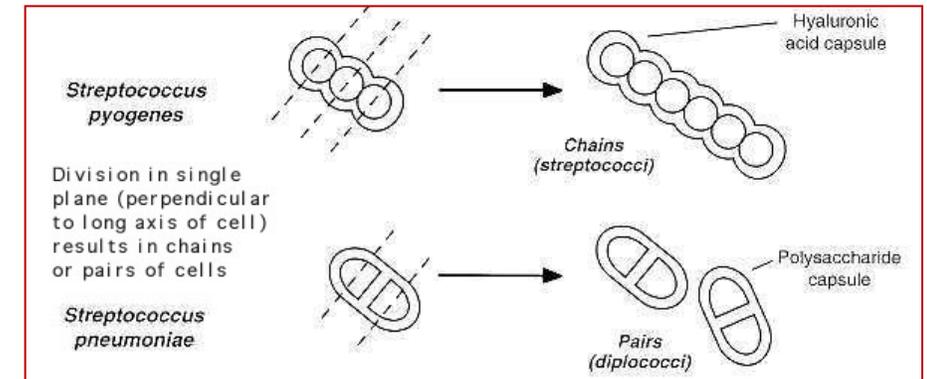
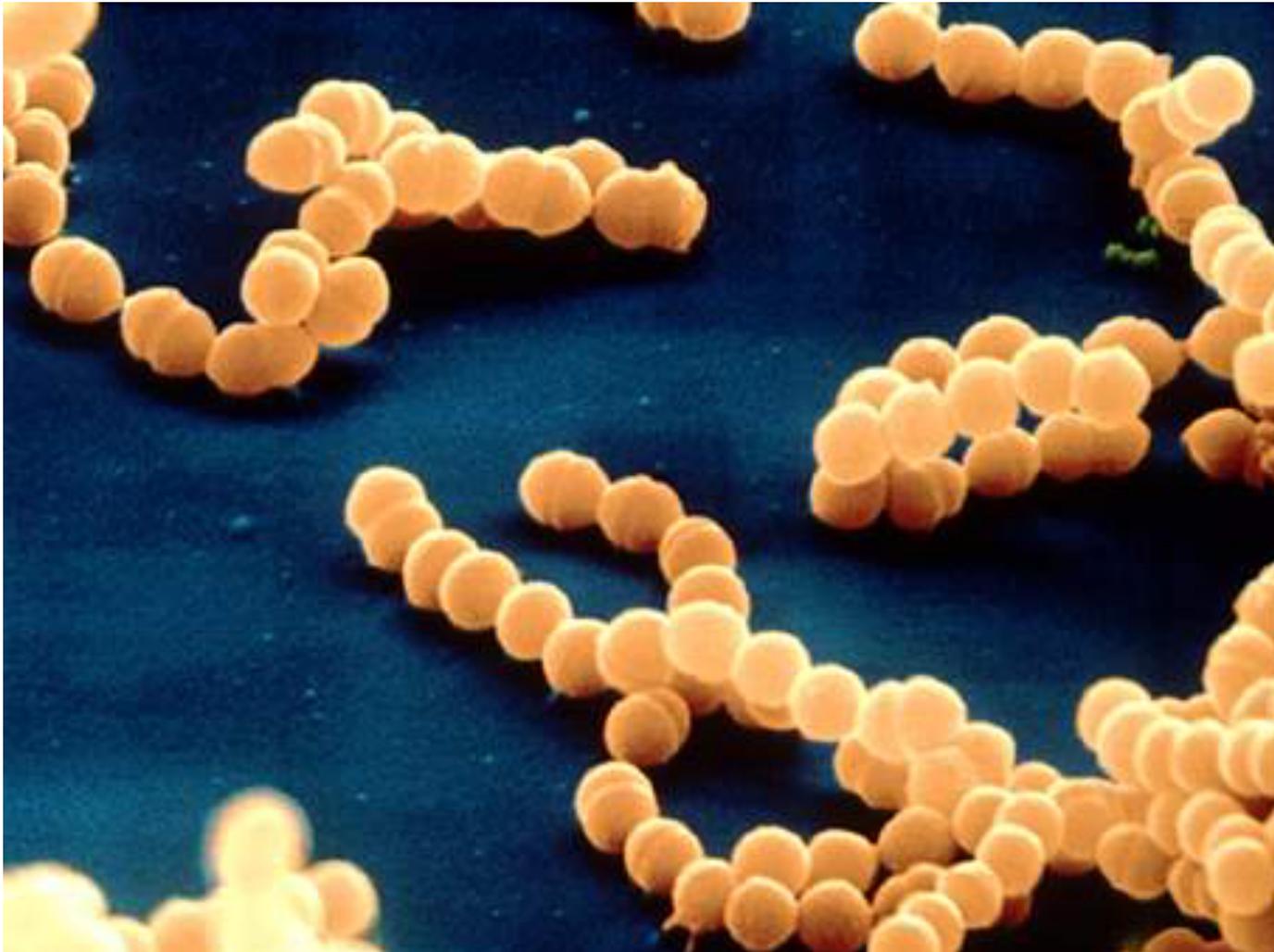


- Catalase -

AGORA
Vamos prosseguir
analisando os
Streptococcus



2. Bactérias do gênero *Streptococcus*



As bactérias do gênero *Streptococcus* se multiplicam em plano da divisão celular paralelos

2. Bactérias do gênero *Streptococcus* (continuação)

1.1. Características gerais

- ✓ O gênero tem várias espécies e vários grupos sorológicos;
- ✓ A maioria das espécies é anaeróbia facultativa;
- ✓ Têm aprox. 0,6 - 1 μm de diâmetro. São anaeróbios facultativos não sensíveis ao O_2 , produzem ácido láctico;
- ✓ A maioria das espécies necessita para seu cultivo de meios enriquecidos com sangue;
- ✓ Fermentam açúcares e isto resulta na produção de ácido láctico;
- ✓ Agrupam-se em pares ou em cadeias de tamanhos variáveis;
- ✓ Há várias espécies que fazem parte da microbiota normal do corpo humano;
- ✓ Há várias espécies que são responsáveis por inúmeras doenças no homem e em animais;



Classificação dos *Streptococcus*:

Uma forma de ser feita considera sua capacidade de provocar lise (morte celular) em eritrócitos. Este padrão de hemólise pode ser facilmente analisado, cultivando-se a bactéria em meio completo com 5% de sangue desfibrinado de carneiro:

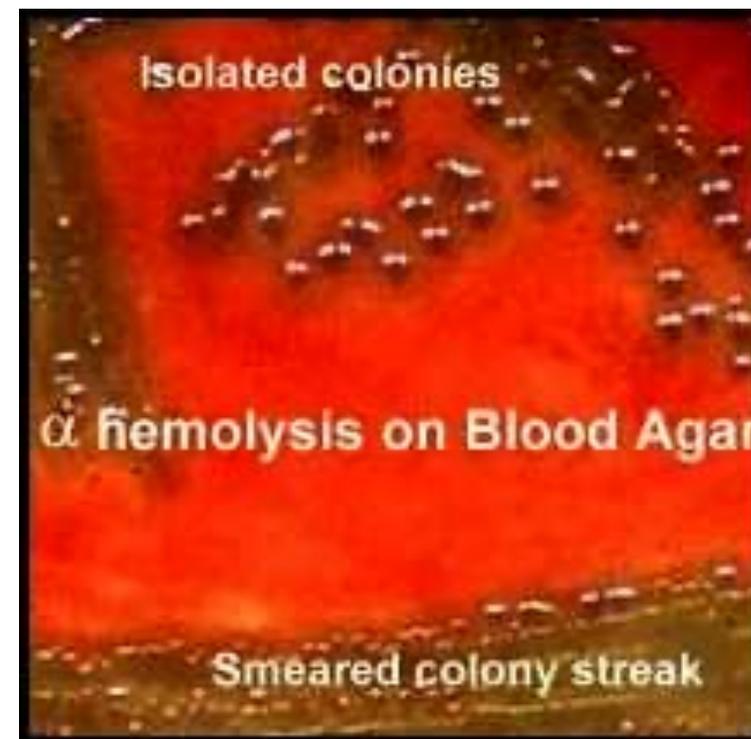
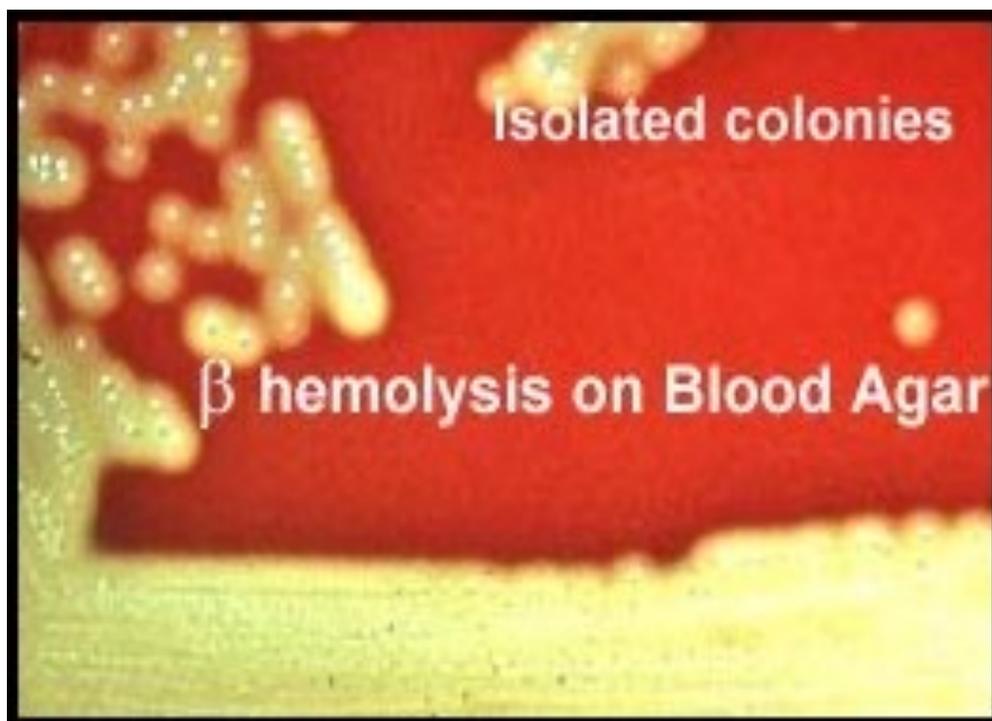
- α -hemólise (hemólise parcial);
- β -hemólise (hemólise total); e,
- δ -hemólise (não hemolítico).

2. Bactérias do gênero *Streptococcus* (continuação)

- **Classificação**

A) De acordo com o tipo de hemólise:

- **Beta** (hemólise total): *Stre. pyogenes*, *Stre. agalactiae*
- **Alfa** (hemólise parcial) : *Stre. pneumoniae* e outros *Stre. viridans*
- **Gama** (ausência de hemólise) : *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*



2. Bactérias do gênero *Streptococcus* (continuação)

- **Classificação**

B) Por sorologia do tipo de carboidrato C presente na superfície celular:

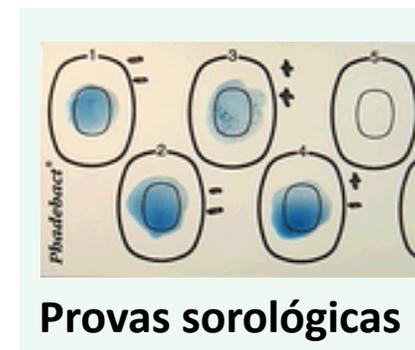
- O CARBOIDRATO C permite a subdivisão em 20 diferentes GRUPOS SOROLÓGICOS

Chamados **GRUPOS de Lancefield: De A até V.**

Obs: *Stre. pneumoniae* e *Stre. viridans* não são agrupáveis

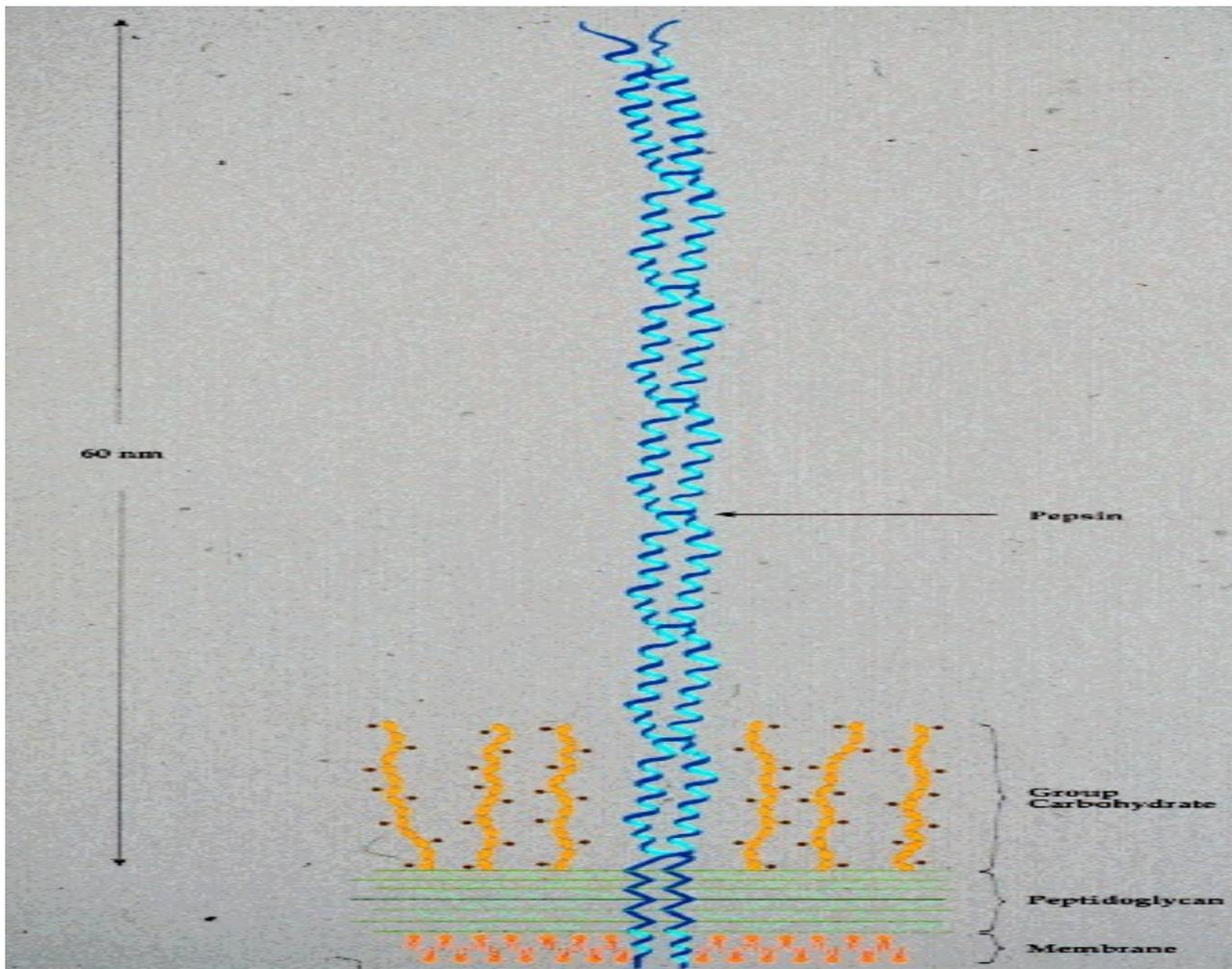


Rebecca Lancefield



Provas sorológicas

2. Bactérias do gênero *Streptococcus* (continuação)



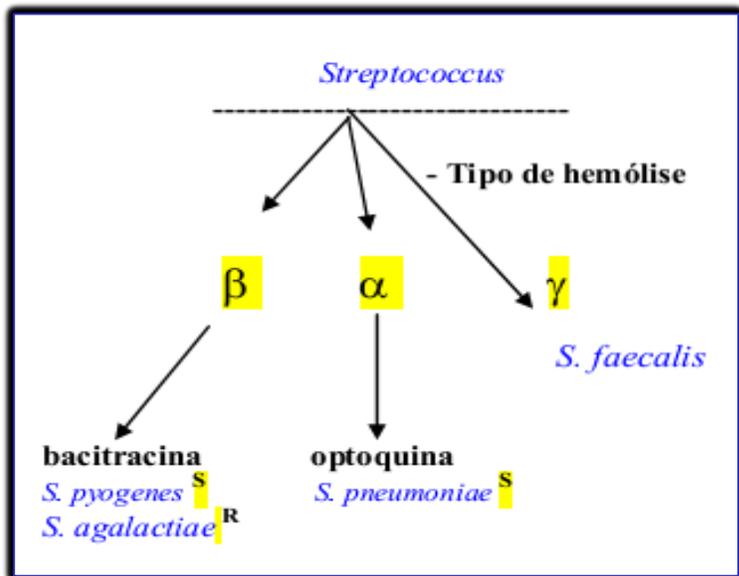
Carboidrato C

20 grupos:

De A até V

Streptococcus - carboidratos de superfície

3. Principais espécies de *Streptococcus*



Beta-hemolíticos:

Podem ser divididos em Grupos de SOROLÓGICOS (Grupos de Lancefield)

- *S. pyogenes* (Grupo A de Lancefield) - Bacitracina^S
- *S. agalactiae* (Grupo B de Lancefield) - Bacitracina^R

Alfa-hemolíticos:

- *S. pneumoniae* - Optoquina^S
- *S. viridans* (*S. mutans*, *S. salivaris* e outros) - Optoquina^R

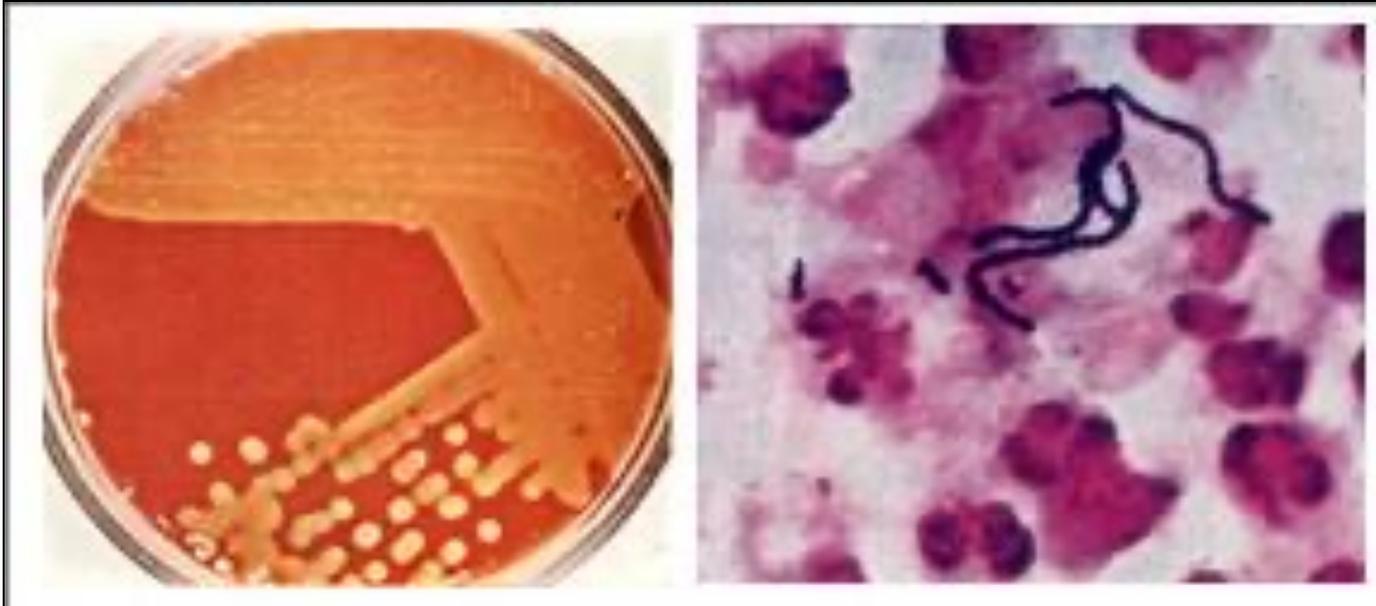
Gama hemolíticos :

- *Enterococcus* (Grupo D de Lancefield)

3. Principais espécies de *Streptococcus*

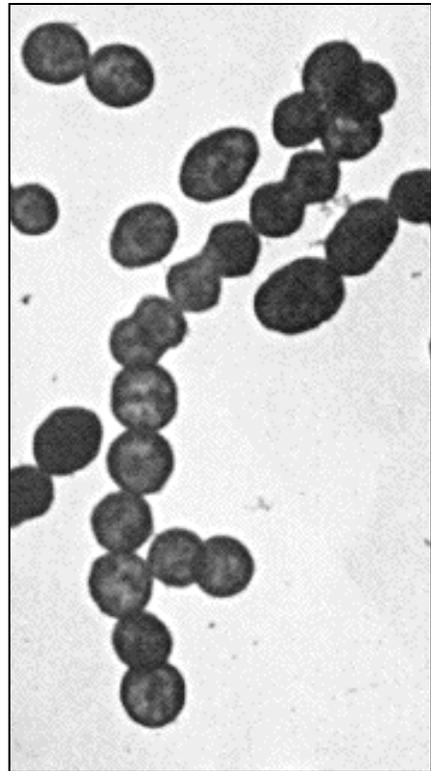
3.1. *Streptococcus pyogenes*

- Cocos Gram-positivos,
- Catalase negativos,
- Beta-hemolíticos,
- Sorogrupos Grupo A de Lancefield

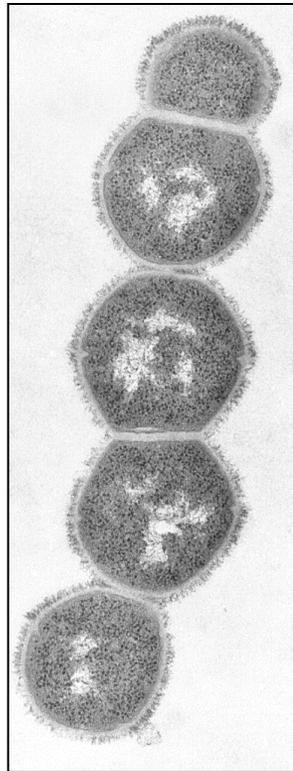


S. pyogenes - cultura e células coradas pela técnica coloração de Gram

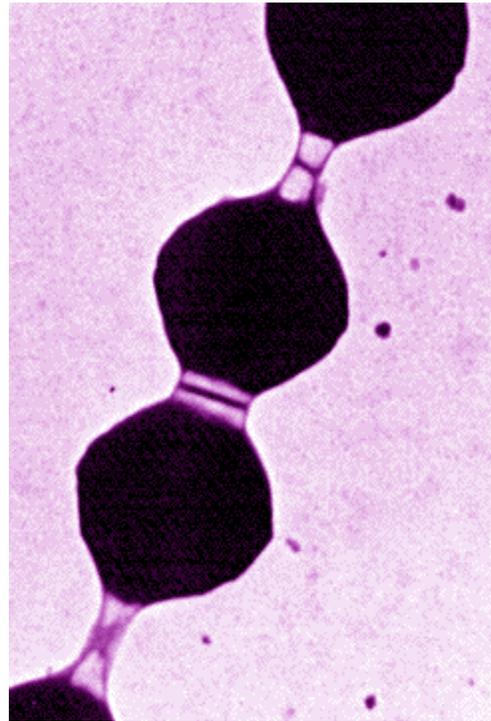
3.1. *Streptococcus pyogenes*



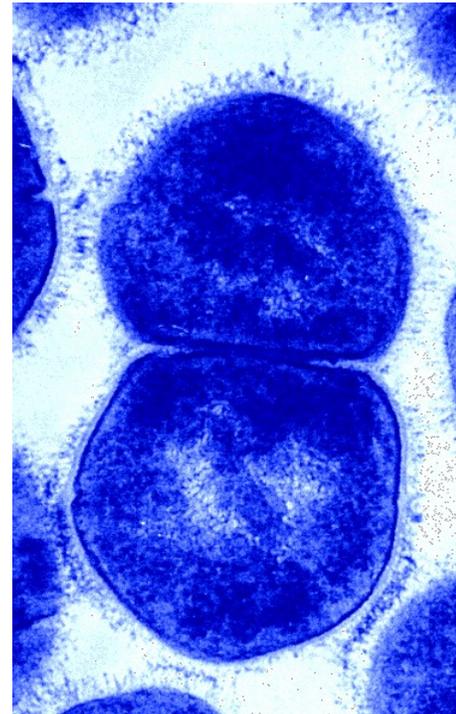
a)



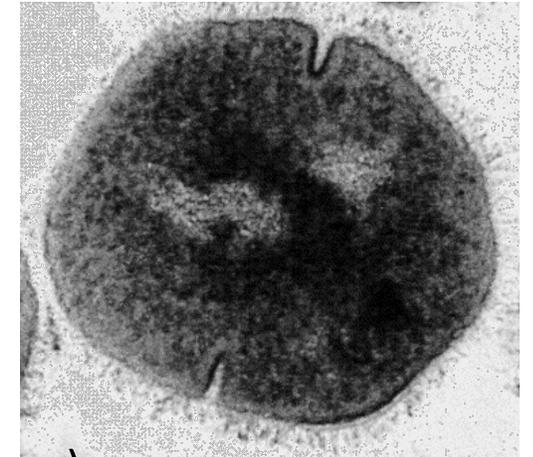
b)



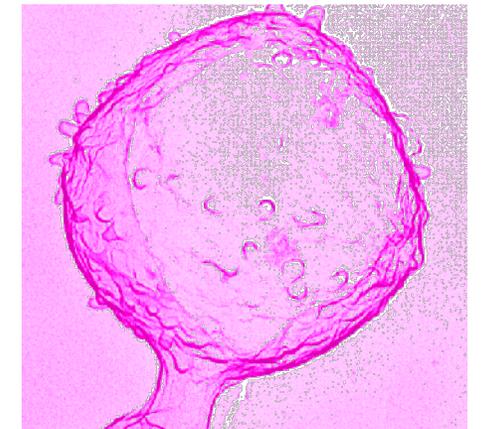
c)



d)



e)

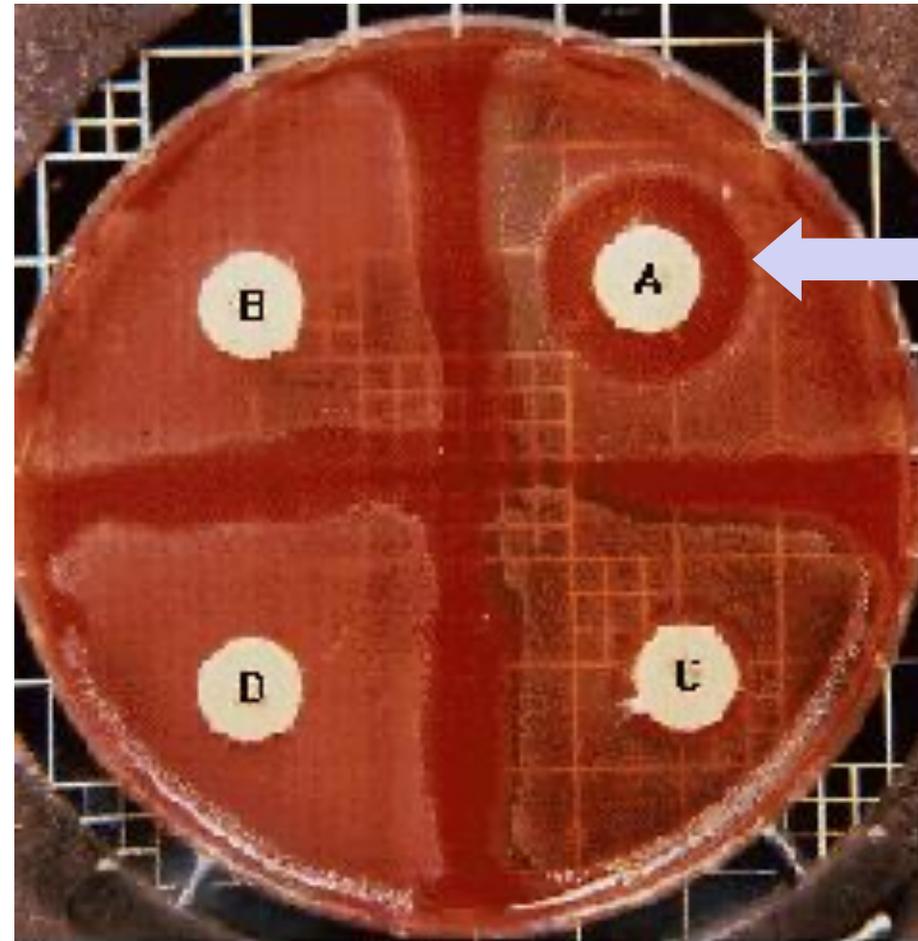


f)

Fig. Microscopia eletrônica de células de *S. pyogenes* em diferentes aumentos: a) 6.500X; b) 20.000X; c) 27.000X; d) 70.000X; e) 78.000X (fimbrias e início da divisão celular); f) 96.000X.

3. Principais espécies de *Streptococcus*

3.1. *Streptococcus pyogenes*



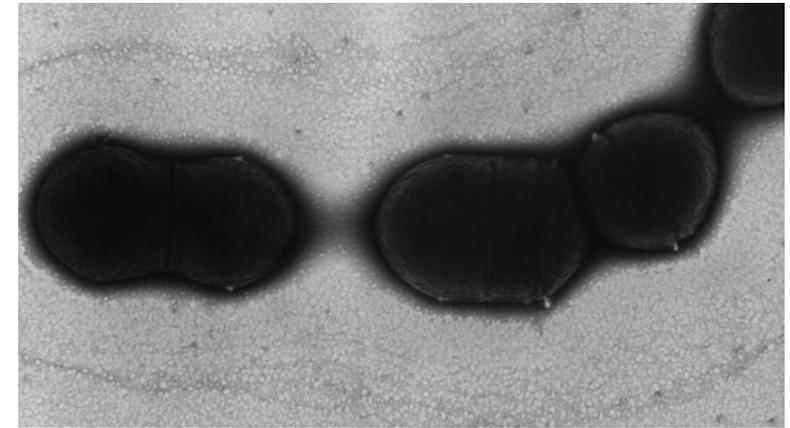
Bacitracina^S
S. pyogenes

Bacitracin Sensitivity
Streptococcal serological grps. A-D

- Identificação: **Beta hemolítico + Sensibilidade a Bacitracina**
= beta hemolítico do (soro)grupo A = *S. pyogenes*

3.1. *Streptococcus pyogenes* - Fatores de virulência

- Cápsula
- Proteína M – É uma classe de proteína de superfície celular. Há mais de 150 tipos diferentes. Promovem a evasão das bactérias das defesas imunes do hospedeiro humano. → Explica recidivas de garganta inflamada
- Hialuronidase
- Estreptolisina S (sensível ao oxigênio) e
- Estreptolisina O (insensível ao oxigênio)
- DNases
- Superantígeno - Exotoxinas pirogênicas



S. pyogenes - cápsula

3.1. *Streptococcus pyogenes* - Fatores de virulência

SUPERANTÍGENOS:

- Exotoxinas pirogênicas Estafilocócicas (Spe):
SpeA, SpeB, SpeC, SpeF
- Proteína M



Promovem inflamação extensa,
Destruição tecidual,
Falência orgânica.



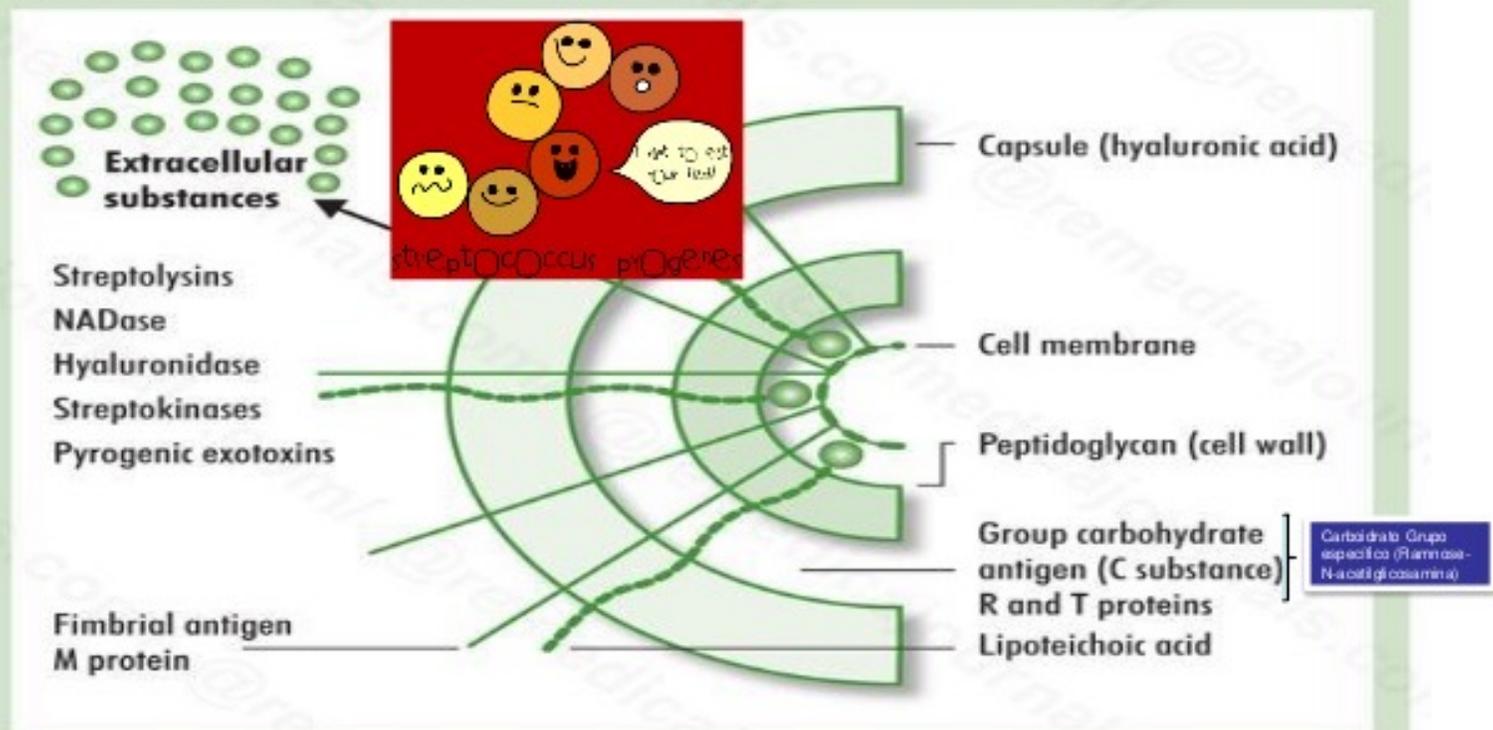
Morte em 15% dos casos

O Tratamento rápido com antibiótico → interrompe os efeitos dos SUPERANTÍGENO

3.1. *Streptococcus pyogenes* - Fatores de virulência

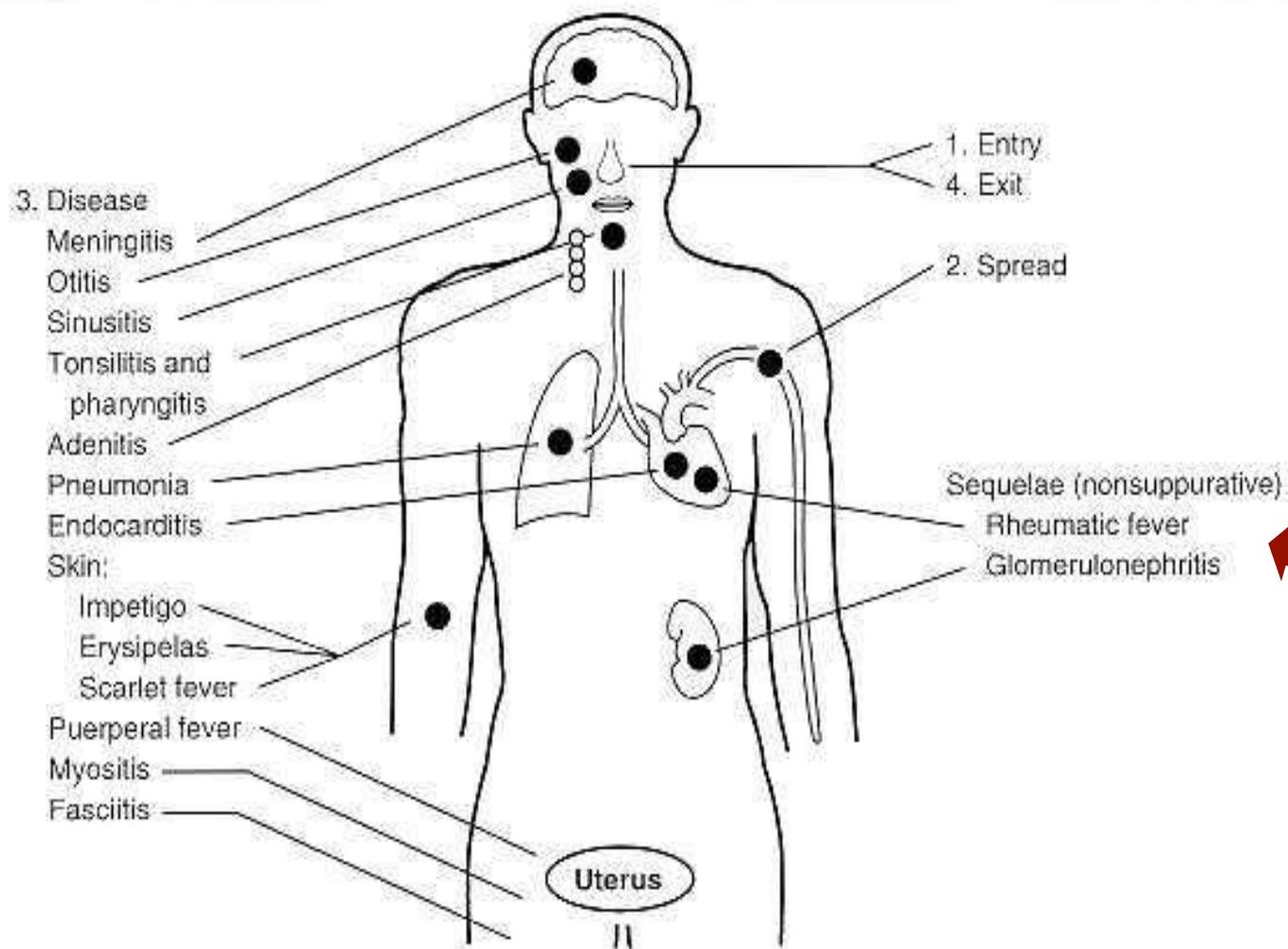
FATORES DE VIRULÊNCIA

Figure 1. Cell surface structure of *Streptococcus pyogenes* and secreted products that are involved in virulence.



Reproduced with permission from Todar's Online Textbook of Bacteriology [69].

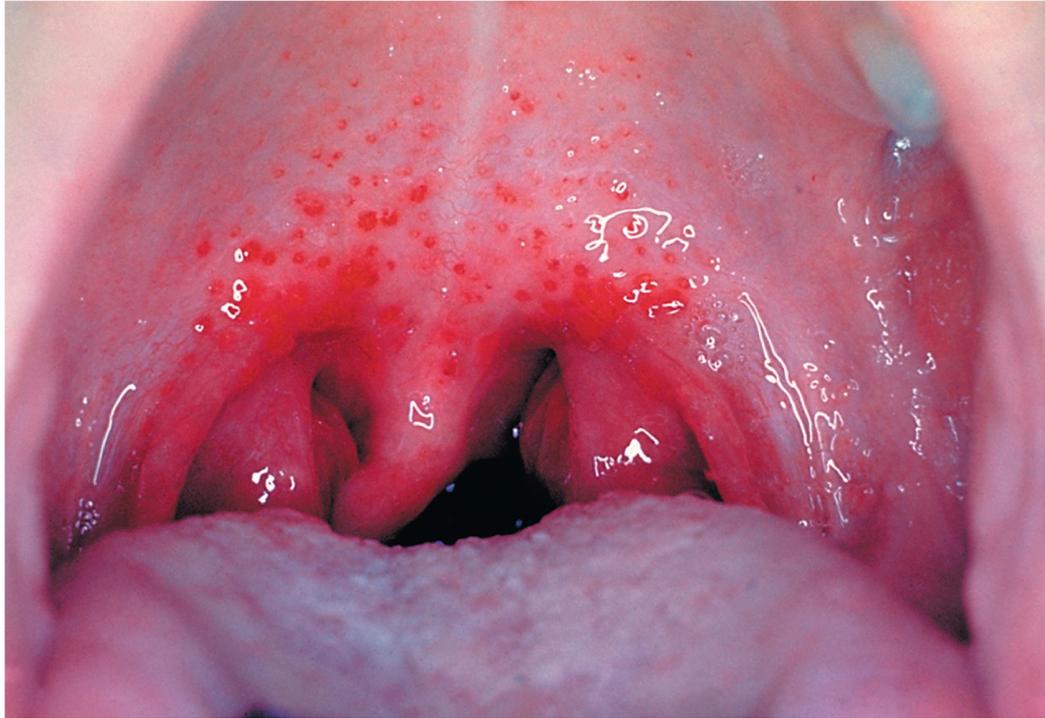
3.1. *Streptococcus pyogenes* - Doenças típicas



DOENÇAS TÍPICAS:

- Faringites
- Otites, sinusites,
- Pneumonia,
- Impetigo, Erisipela,
- Bacteremia, Septicemia,
- Fasceite necrosante,
- Sequelas (doenças não supurativas):
 - Febre Reumática (coração)
 - Glomerulonefrite (rins)

3.1. *Streptococcus pyogenes* - Doenças típicas



CDC/PHIL

Figura 29.5 Um caso de garganta infeccionada ocasionada por *Streptococcus pyogenes*. O fundo da garganta está inflamado e apresenta pequenos pontos vermelhos, típicos de faringite estreptocócica.

Fonte: Microbiologia de Brock, 14^a. ed. 2016.



Franklin H. Top

Figura 29.6 Típicas lesões de impetigo. O impetigo geralmente é causado por *Streptococcus pyogenes* ou *Staphylococcus aureus*.

Fonte: Microbiologia de Brock, 14^a. ed. 2016.

3.1. *Streptococcus pyogenes* - Doenças típicas



ODC/Dr. Thomas F. Sellers

Figura 29.7 Erisipela. A erisipela, aqui ilustrada no nariz e nas bochechas, é uma infecção de pele causada por *Streptococcus pyogenes*, caracterizada por vermelhidão e margens distintas da infecção. Outros locais corporais comuns de infecção incluem as orelhas e as pernas.

Fonte: Microbiologia de Brock, 14ª. ed. 2016.



Franklin H. Top

Figura 29.9 Escarlatina. A típica erupção da escarlatina resulta da ação da exotoxina pirogênica produzida por *Streptococcus pyogenes*.

Fonte: Microbiologia de Brock, 14ª. ed. 2016.

3.1. *Streptococcus pyogenes* - Doenças típicas

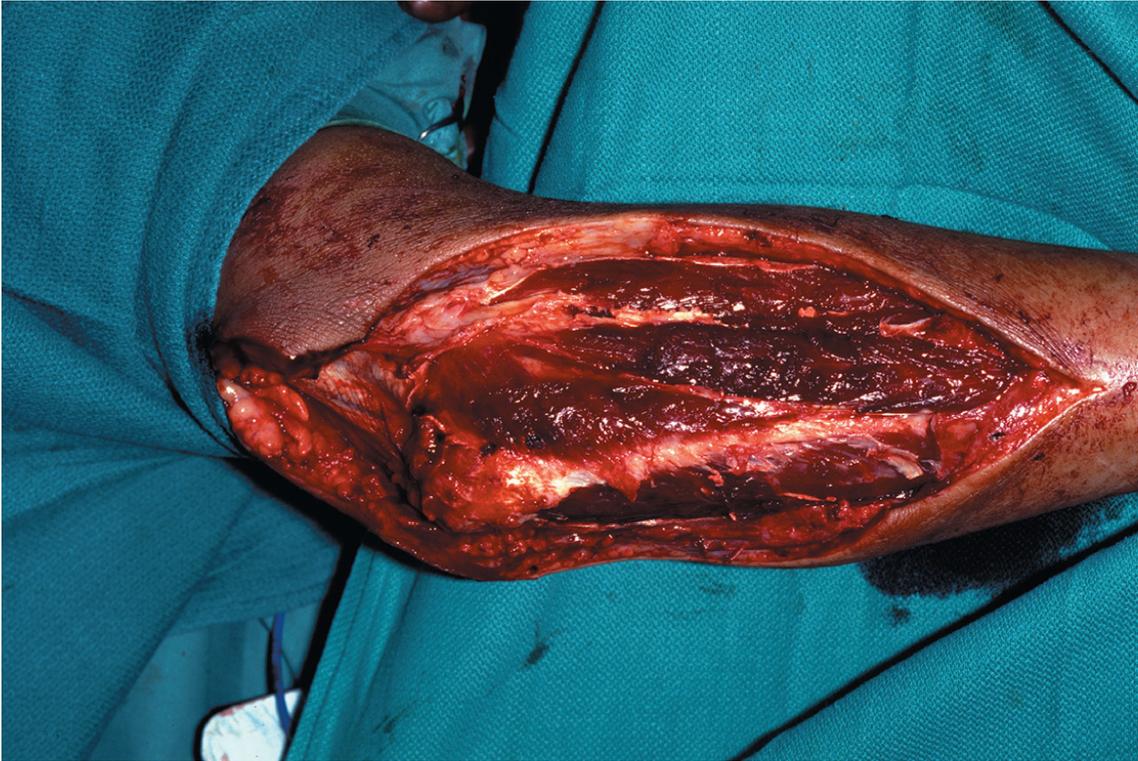


Figura 29.10 Fasceíte necrosante (popularmente conhecida com “bactéria comedora de carne”). Infecção de tecidos moles do antebraço de um homem, causada por *Streptococcus pyogenes* do grupo A. A carne do braço se abriu em dois para revelar a fáscia do músculo e os tecidos internos infectados.

Fonte: Microbiologia de Brock, 14^a. ed. 2016.

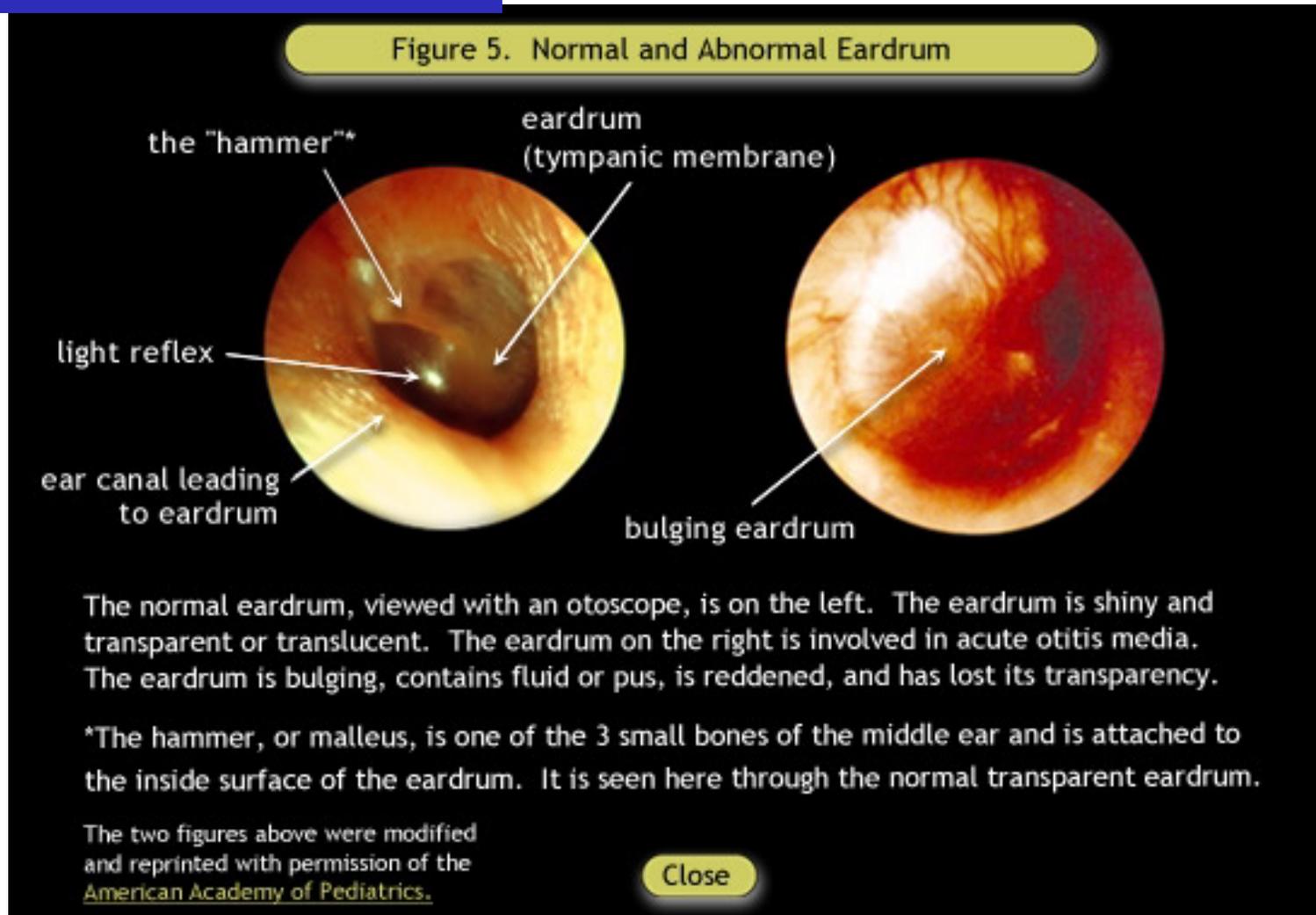
Fasceíte necrosante

Causada por um isolado de *Streptococcus pyogenes* que foi infectado por um bacteriófago.

Esta bactéria passa a produzir **SUPERANTÍGENOS** SpeA, SpeB, SpeC, SpeM, Proteína M.

Lesão tecidual extensa – **“BACTÉRIA COMEDORA DE CARNE”**

3.1. *Streptococcus pyogenes* - Doenças típicas



S. pyogenes – doença supurativa nas artérias

3.1. *Streptococcus pyogenes* - Doenças típicas

DOENÇAS TÍPICAS – SEQUELA :

- **Febre Reumática**

Antígenos da superfície celular bacteriana são semelhantes aos antígenos de válvulas cardíacas e articulações



Danos podem ser exacerbados após várias reinfecções.

DOENÇAS TÍPICAS – SEQUELA :

- **Glomerulonefrite**

Doença renal (**glomérulos**) nas membranas filtrantes dos rins causando inflamação renal (**nefrite**) com dor intensa.



Danos podem ser exacerbados após várias reinfecções.

IMPORTÂNCIA DO DIAGNOSTICO RÁPIDO :

- Métodos imunológicos (pode ser feita em minutos
X
- Técnicas dependentes de Cultivo (+ lento: 2 dias), são 40% mais precisos



Tratamento com antibióticos

- Evitar recidivas
- Evitar doenças e SEQUELAS

3.1. *Streptococcus pyogenes* - Tratamento

Principais antibióticos:

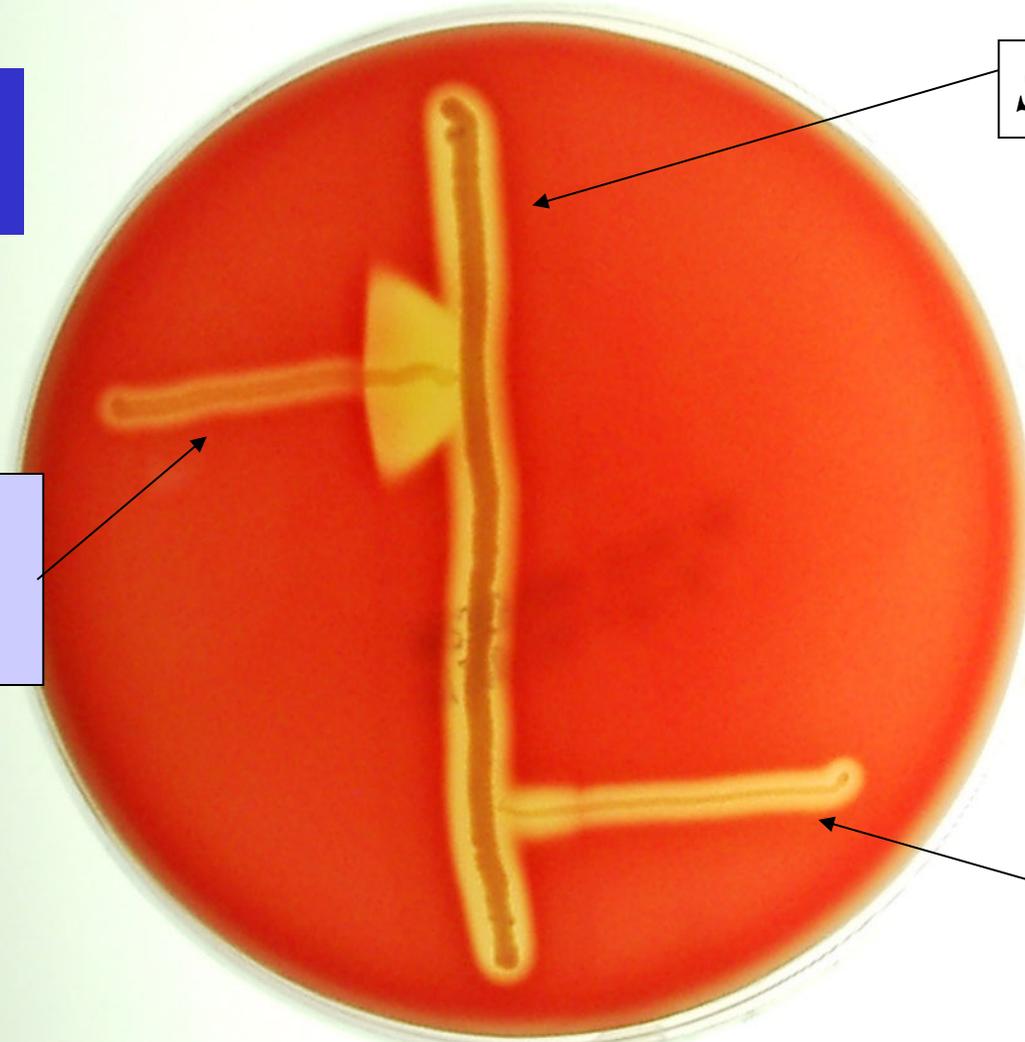
- **β-lactâmicos:** Penicilina, Ampicilina, Cefepima,
- **Inibidores de síntese proteica:** Cloranfenicol, Tetraciclina, Eritromicina, Azitromicina, Clindamicina
- **Inibidores de síntese de parede celular:** Vancomicina.

3.2. *Streptococcus agalactiae*

- Cocos Gram-positivos,
- catalase negativos,
- Beta hemolíticos,
- **do sorogrupo B (de Lancefield)**
(método mais preciso de identificação)

3.2. *Streptococcus agalactiae*
(método antigo de identificação)

S. agalactiae
(Grupo B)



S. aureus

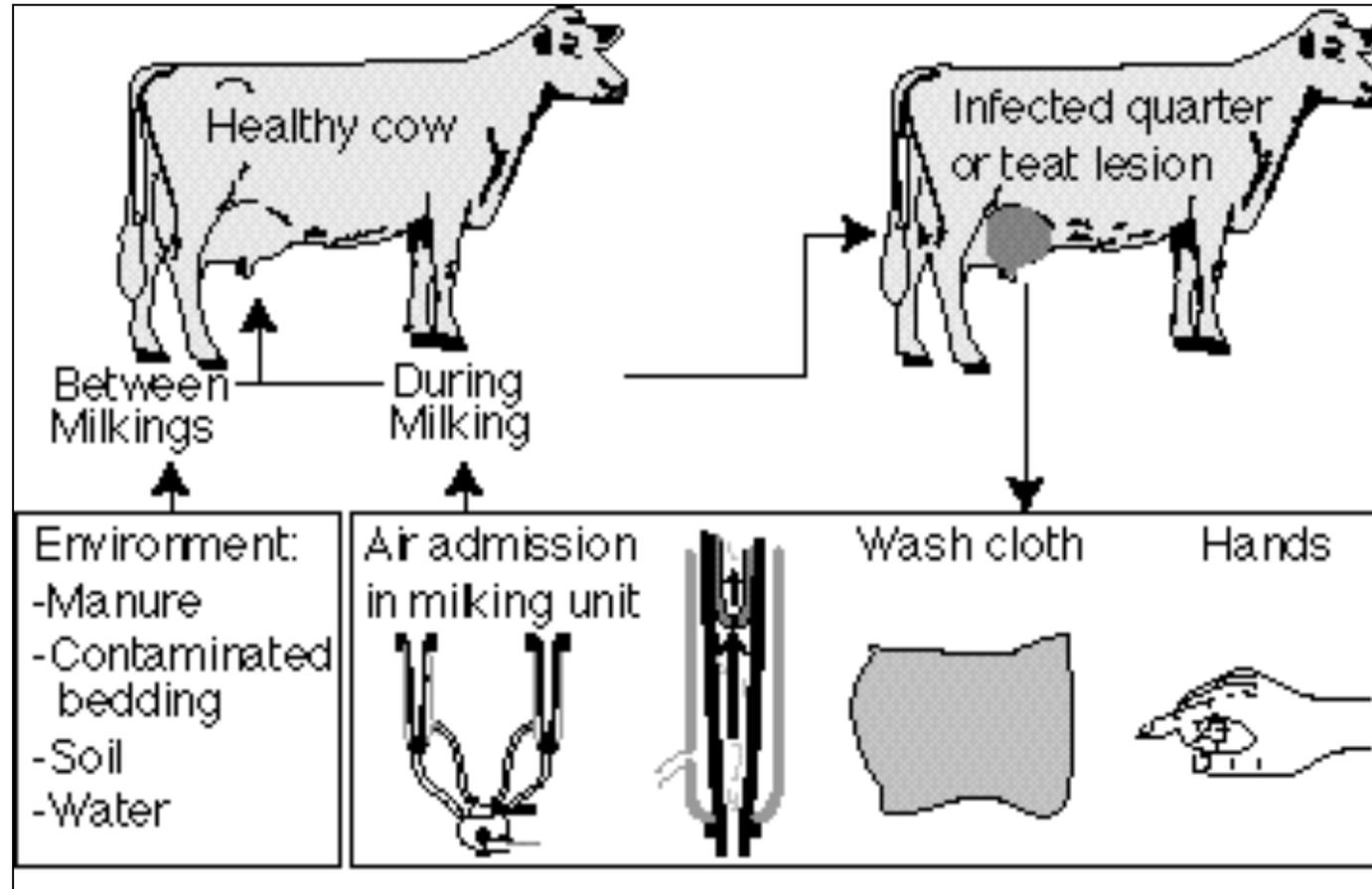
S. pyogenes
(Grupo A)

Camp-Test : o halo em forma de sete mostra a zona de fortalecimento da hemólise
- (Resultado +) *Streptococcus agalactiae* (group B);
- (Resultado -) *Streptococcus pyogenes* (group A)

testado contra *Staphylococcus aureus*.

3.2. *Streptococcus agalactiae*

- Doenças típicas 1



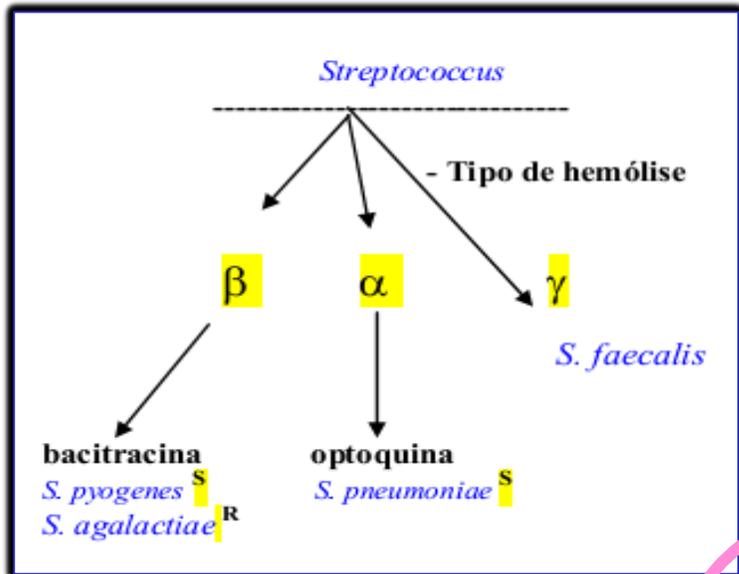
S. agalactiae - mastite

3.2. *Streptococcus agalactiae*
- Doenças típicas 2



S. agalactiae - Doença Neonatal de Início Precoce
Doença Neonatal de Início Tardio

3. Principais espécies de *Streptococcus*



Beta-hemolíticos:

Podem ser divididos em Grupos de SOROLÓGICOS (Grupos de Lancefield)

- *S. pyogenes* (Grupo A de Lancefield) - Bacitracina^S
- *S. agalactiae* (Grupo B de Lancefield) - Bacitracina^R

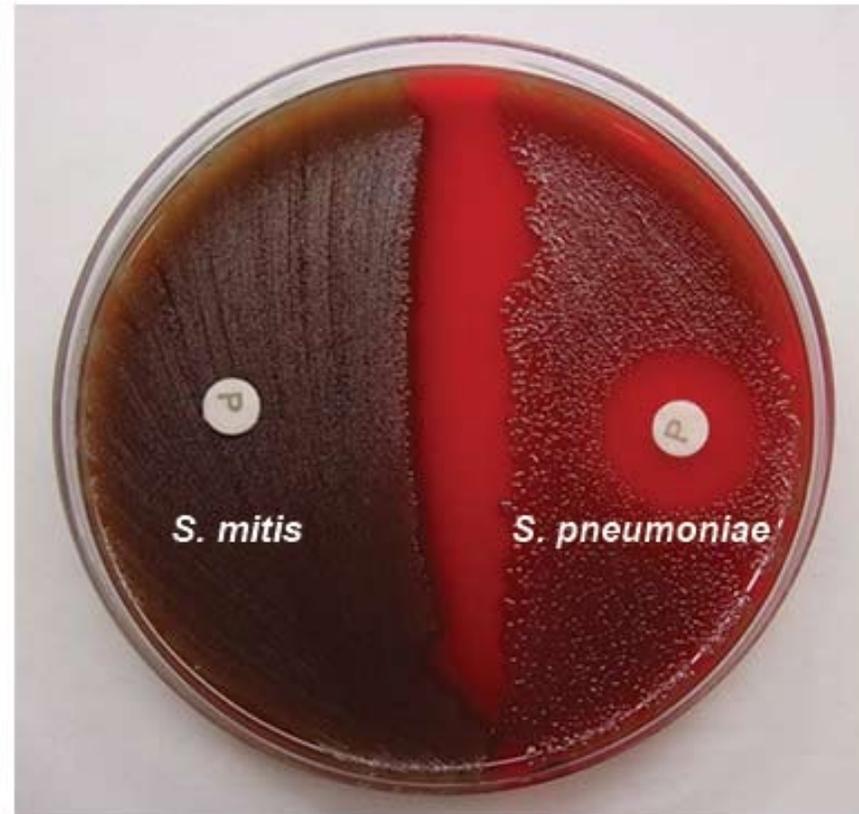
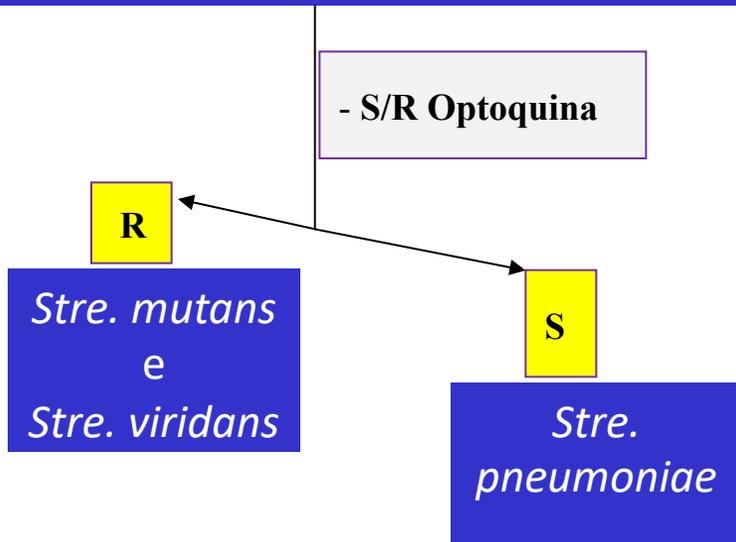
Alfa-hemolíticos:

- *S. pneumoniae* - Optoquina^S
- *S. viridans* (*S. mutans*, *S. salivaris* e outros) - Optoquina^R

Gama hemolíticos :

- *Enterococcus* (Grupo D de Lancefield)

Streptococcus α-hemolíticos (viridans)



Left Side

S. mitis

Resistant to optochin

Right Side

S. pneumoniae

Susceptible to optochin

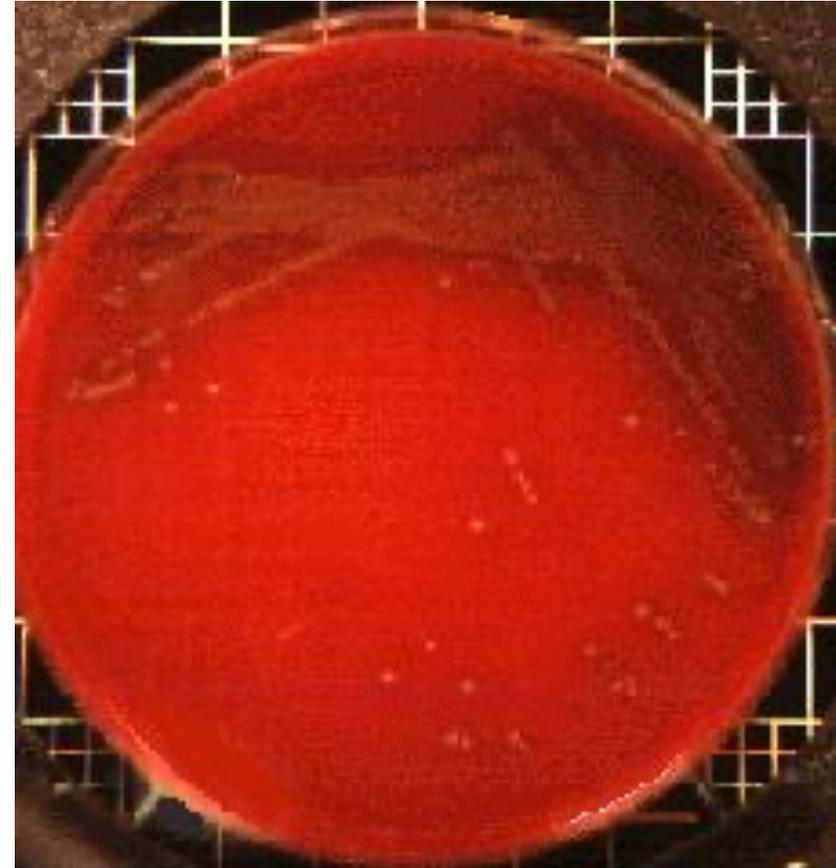
Cocos Gram-positivos α -hemolíticos

Streptococcus pneumoniae – Optoquina S

Streptococcus mutans - Optoquina R

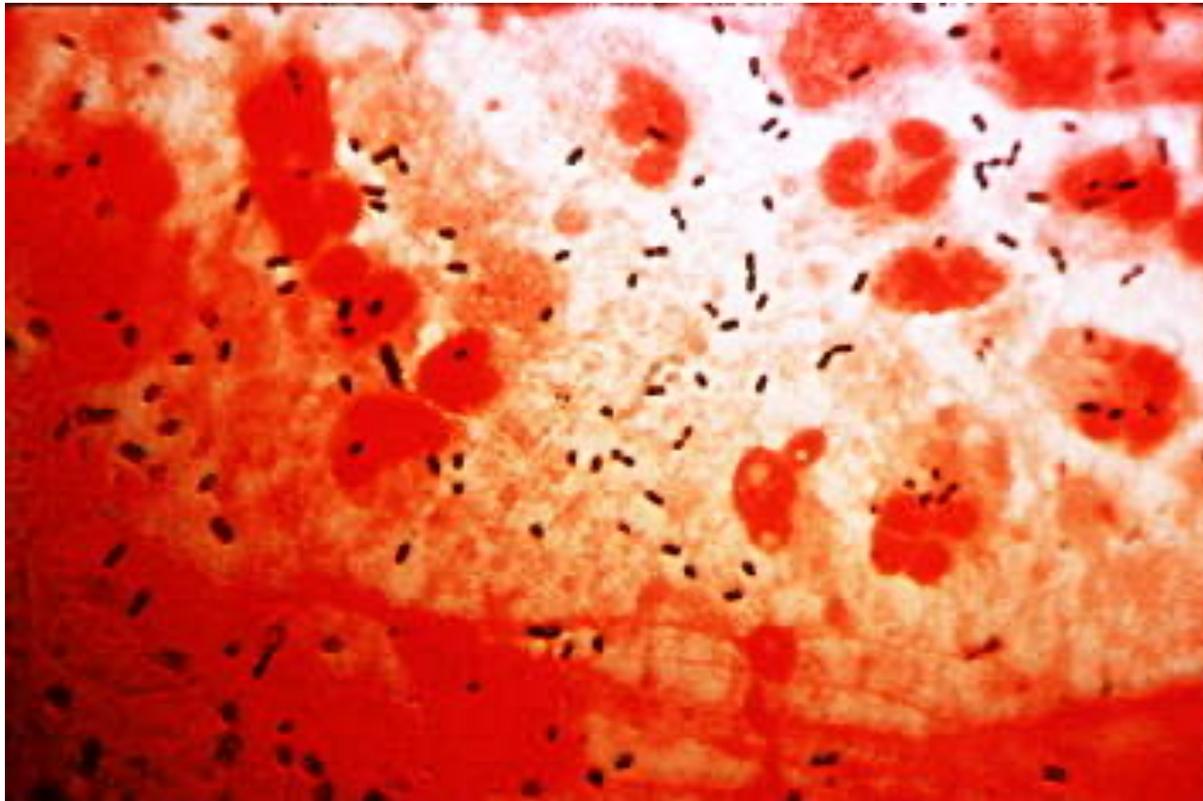


α -hemólise (hemólise parcial).



S. viridans - crescimento em ágar sangue

3.3. *Streptococcus pneumoniae*



S. pneumoniae (diplococos) corados pela técnica de coloração de Gram

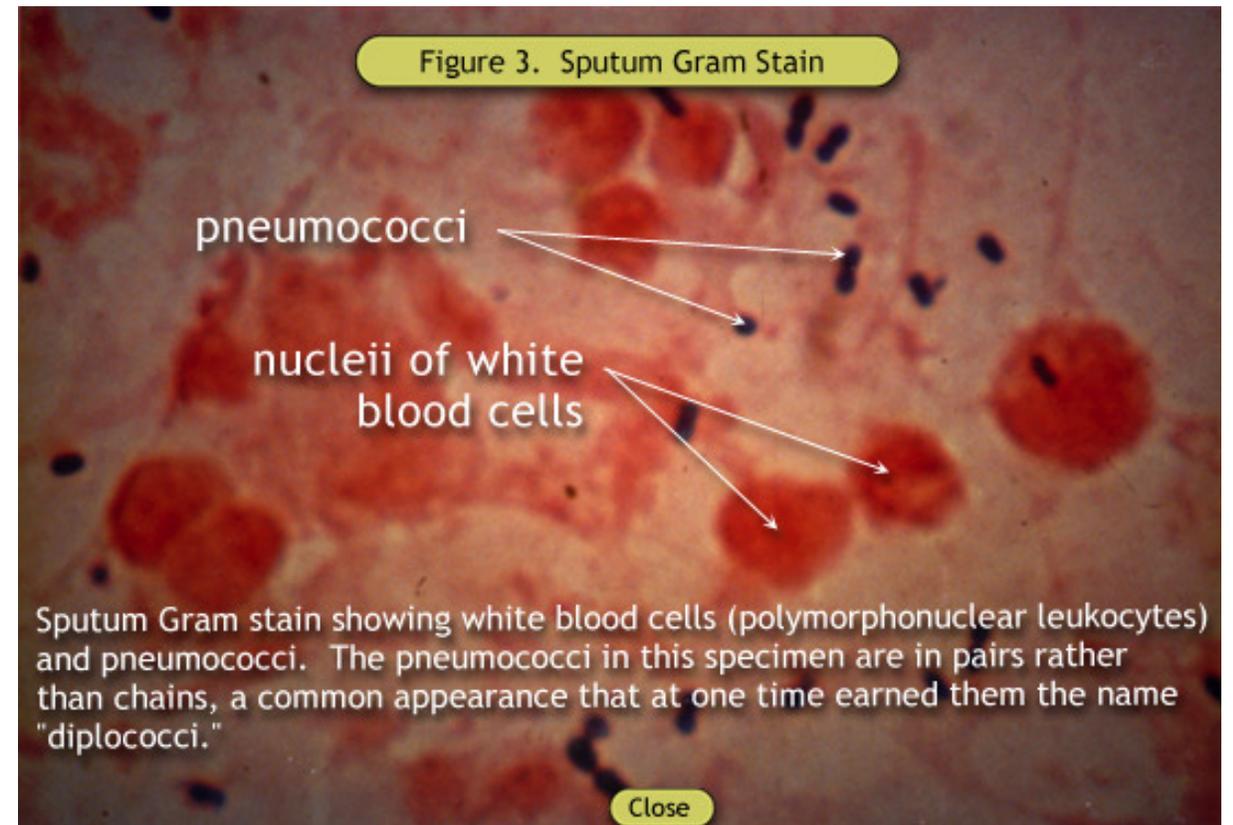


Figure 3. Sputum Gram Stain

pneumococci

nucleii of white
blood cells

Sputum Gram stain showing white blood cells (polymorphonuclear leukocytes) and pneumococci. The pneumococci in this specimen are in pairs rather than chains, a common appearance that at one time earned them the name "diplococci."

Close

S. pneumoniae - bacterioscopia direta de escarro de paciente com suspeita de pneumonia após coloração de Gram.

3.3. *Streptococcus pneumoniae*



Isaac Shechmeister

Figura 29.11 *Streptococcus pneumoniae*. Coloração negativa com tinta nanquim. Uma extensa cápsula envolve as células. As células apresentam cerca de 1,0 a 1,2 μm de diâmetro.

Fonte: Microbiologia de Brock, 14^a. ed. 2016.

Figure 2. Scanning electron photomicrograph of *Streptococcus pneumoniae* (enlarged over 20,000 times)

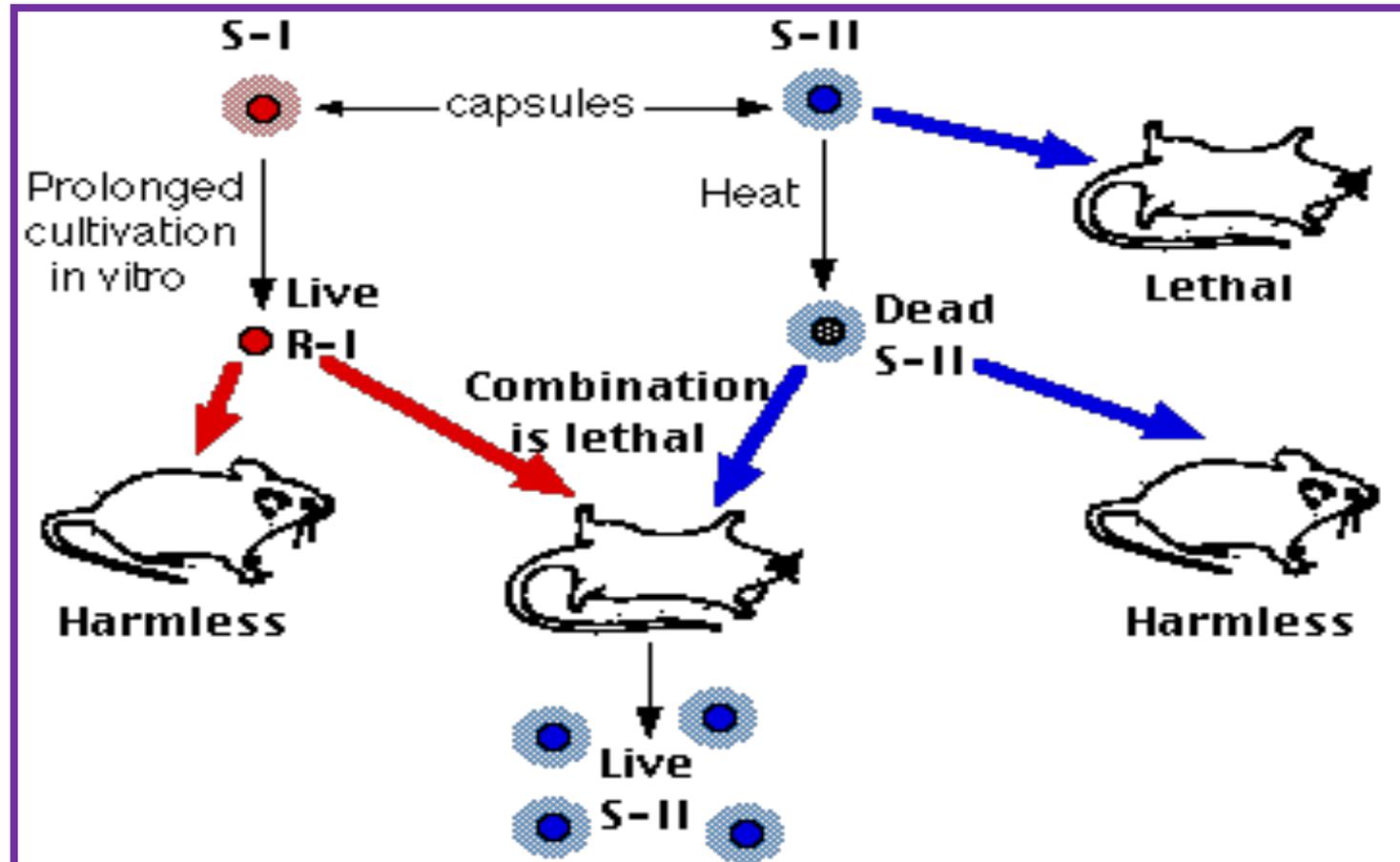


Copyright©1993, Massachusetts Medical Society. All rights reserved.
Reprinted with permission from the Massachusetts Medical Society

Source: Philips DM. Images in clinical medicine.
Streptococcus pneumoniae.
N Engl J Med 1993; 329:427.

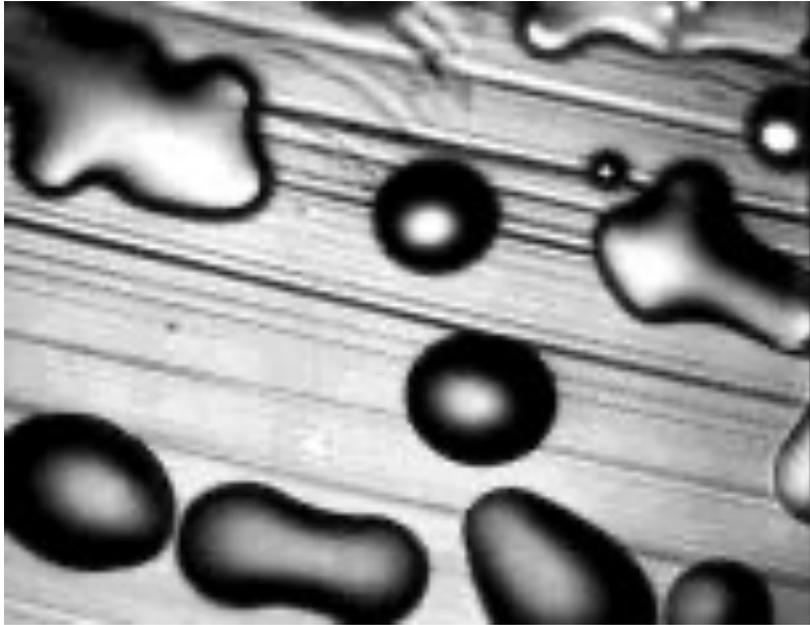
Close

Microscopia eletrônica de células *S. pneumoniae* - com aumento de 20.000 x

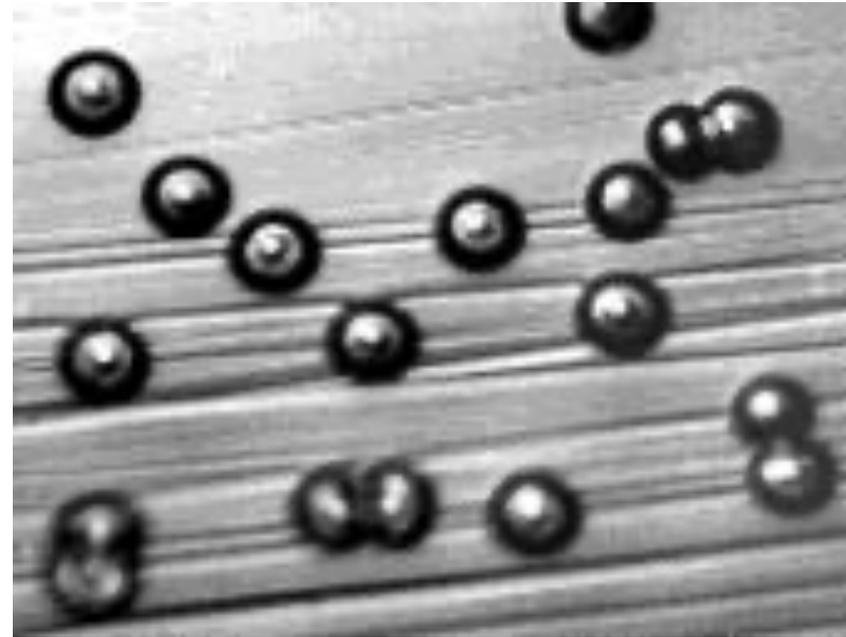
3.3. *Streptococcus pneumoniae*

S. pneumoniae - Experiência pioneira de Griffith (1944) que demonstrou ser a natureza do material genético o DNA: O material purificado da cepa *Diplococcus pneumoniae* lisa (com cápsula) **transforma** a cepa *Diplococcus pneumoniae* rugosa (sem cápsula) em lisa.

3.3. *Streptococcus pneumoniae*



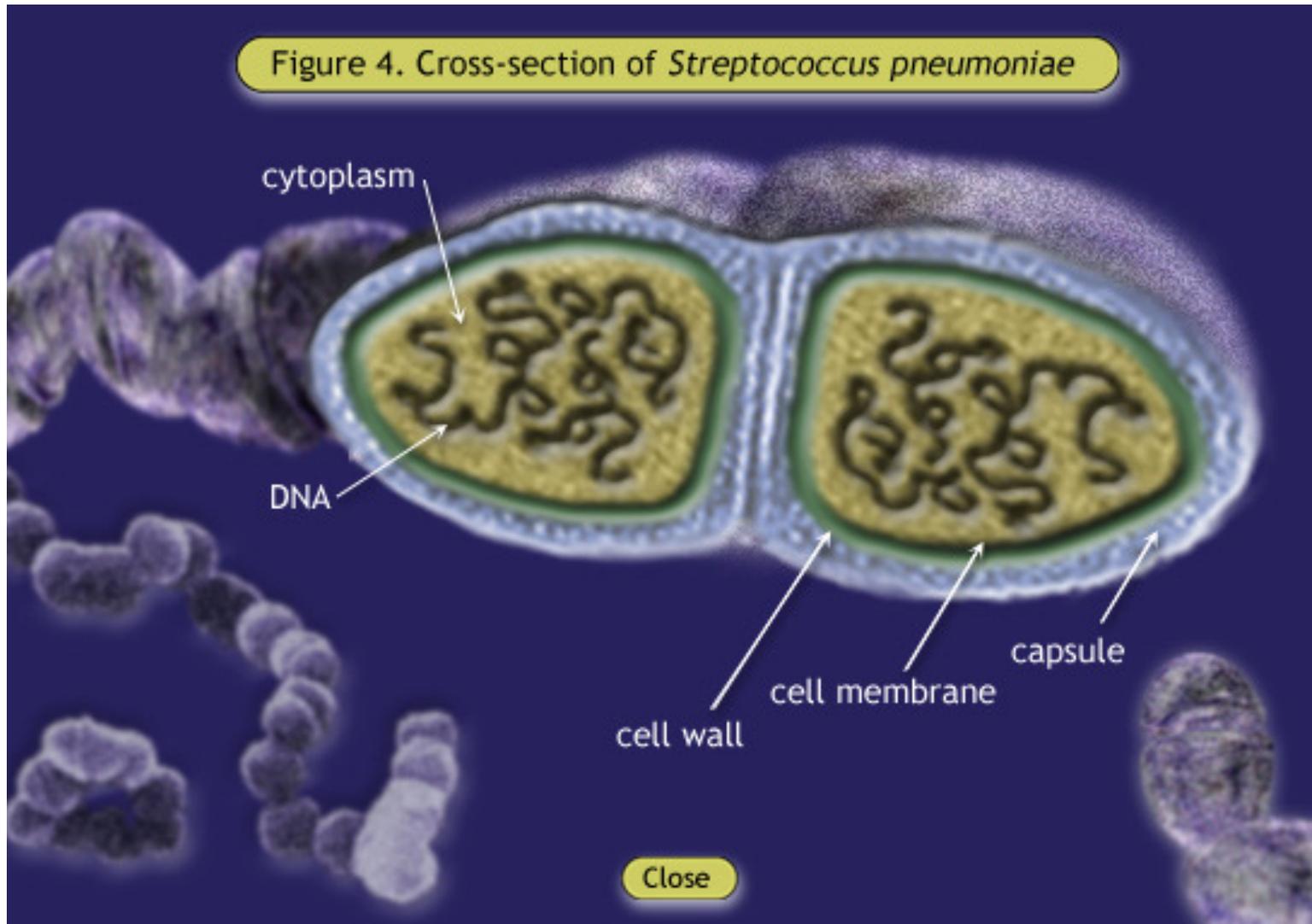
Células com cápsula (patogênicas)



Células sem cápsula (não patogênicas)

S. pneumoniae - Células lisas (com cápsula e patogênicas) e rugosas (sem cápsula e não patogênicas).

3.3. *Streptococcus pneumoniae*



S. pneumoniae - estrutura celular

3.3. *Streptococcus pneumoniae* - Doenças

Linhagens capsuladas são muito invasivas e são Resistentes a fagocitose



Resposta inflamatória nos alvéolos e Função pulmonar Reduzida



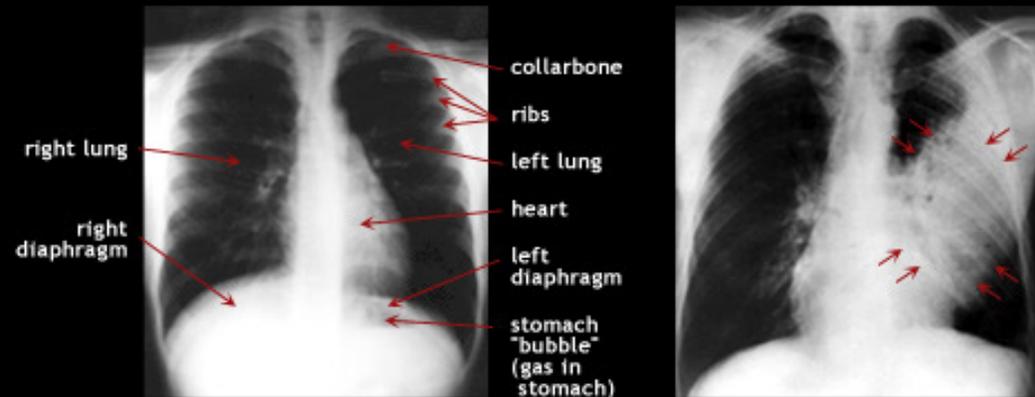
Bacteremia



- infecções ósseas
- infecções ouvido médio
- endocardite
- **pneumonia**

Consequente: Não tratados - 30% Morte
: Tratados - 10% Morte

Figure 7. Normal chest X-ray and pneumonia



The normal chest X-ray on the left shows the shadows of the ribs and the structures in or around the rib cage. X-rays are like negatives. Denser structures (bone for example) are lighter and less dense structures (lungs for example) are darker. The dark areas inside the rib cage are the lungs. A chest X-ray of a patient with pneumococcal pneumonia is shown on the right. The arrows outline the abnormal shadow (light area) in the left lung which corresponds to the area of pneumonia and inflammation. This area is denser than the normal lung because the air has been replaced with pus.

Close

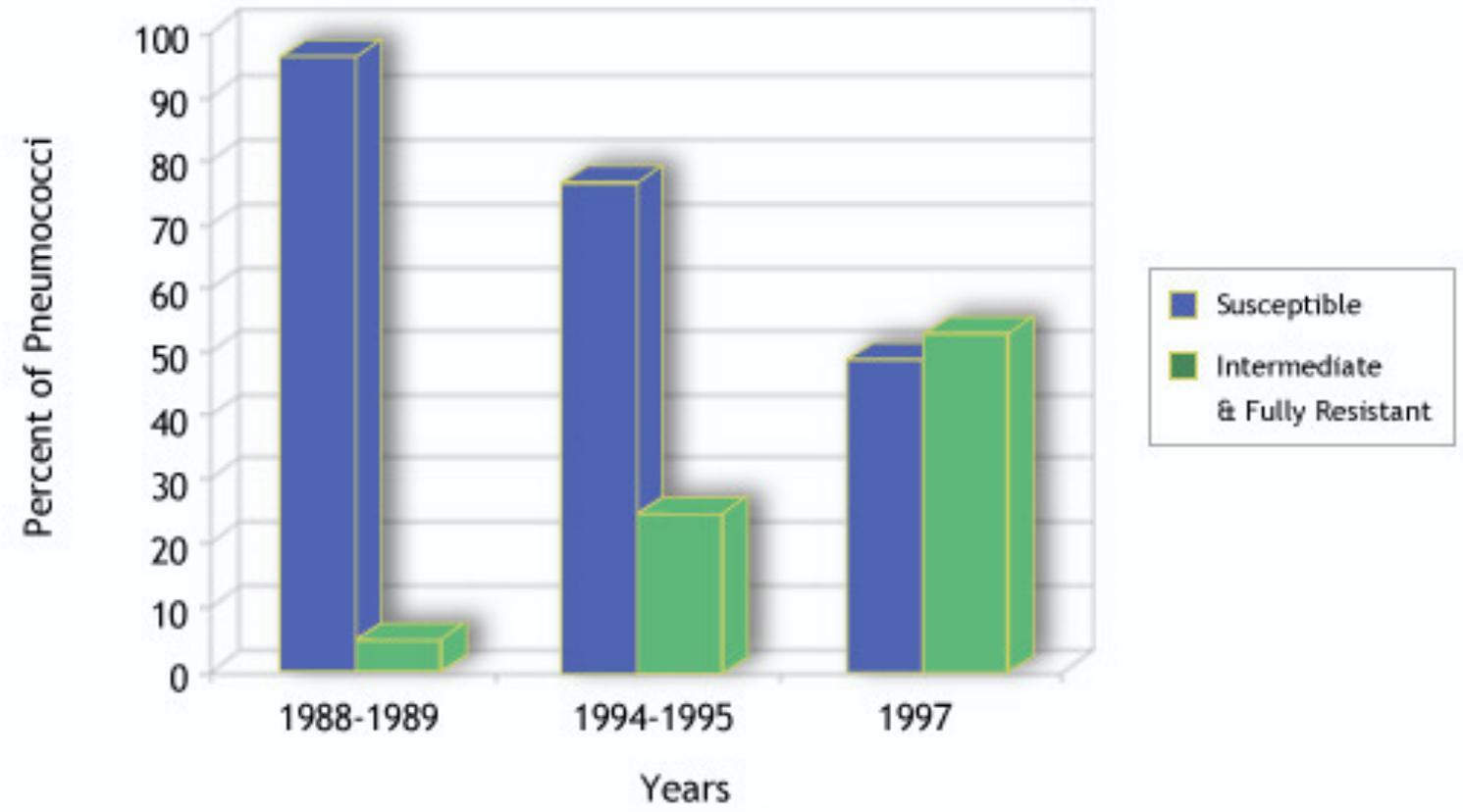
3.3. *Streptococcus pneumoniae* - Doença : Pneumonia

Vacina preventiva:

- Há uma vacina com 2/3 dos sorotipos conhecidos;
- Recomendada para idosos, profissionais de saúde, pessoas com imunidade comprometida.

3.3. *Streptococcus pneumoniae* - Evolução da Resistência bacteriana a drogas

Figure 8. Percent of pneumococci resistant to penicillin, 1988 - 1997



Close

Source: Center for Disease Control and Prevention.

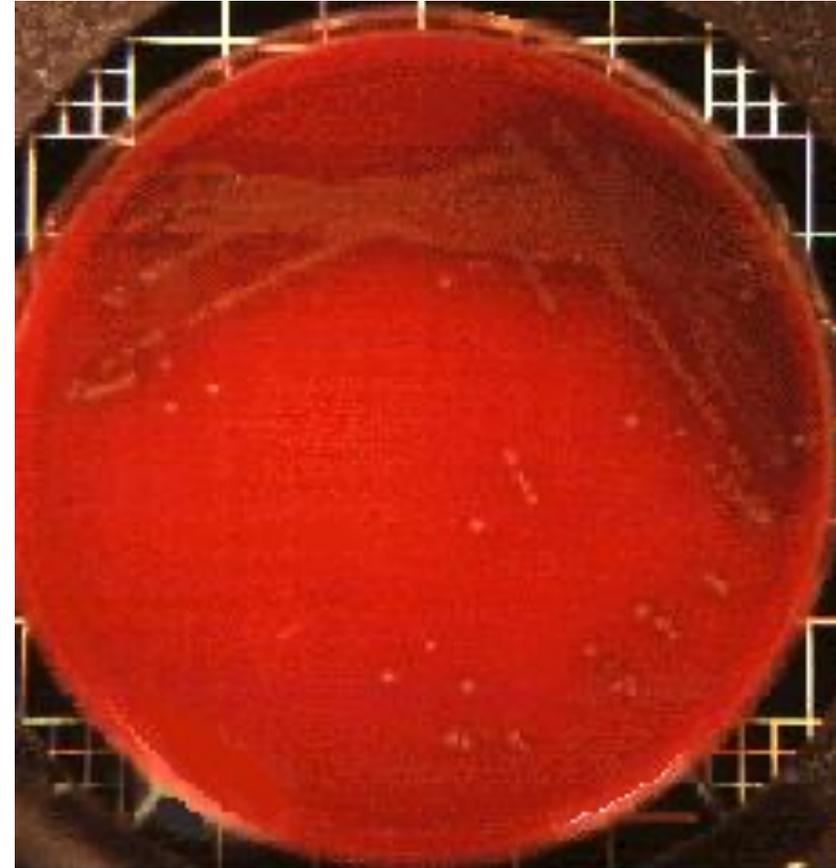
Cocos Gram-positivos α -hemolíticos

Streptococcus pneumoniae

Streptococcus mutans - Optoquina R



α -hemólise (hemólise parcial).



S. viridans - crescimento em ágar sangue

3.4. *Streptococcus mutans* - - Doença – Evolução da cárie

Dental Caries

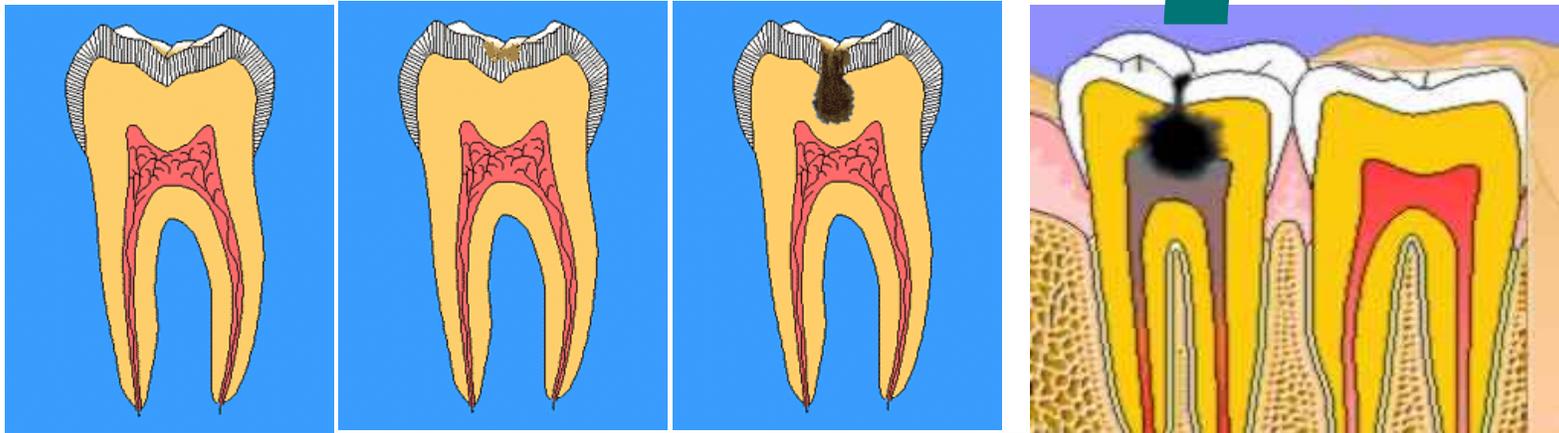
Streptococcus mutans p659

- C
- S **plaque → caries**
- P **sucrose + *S. mutans* → glucose + fructose**
glucose + *S. mutans* → dextran
fructose + *S. mutans* → lactic acid
- D
- T
- E **normal flora;**
prevent with fluoride, brushing and no sucrose

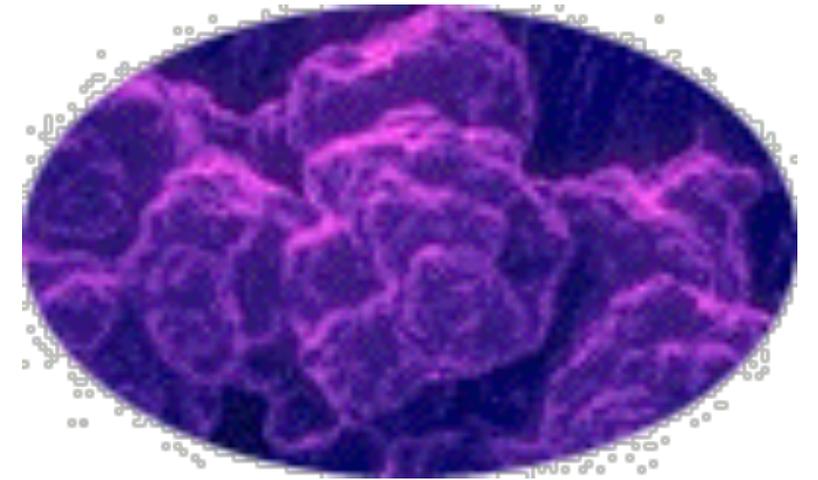


S. viridans - células coradas
p/Gram

3.4. *Streptococcus mutans* - Doença – Evolução da cárie

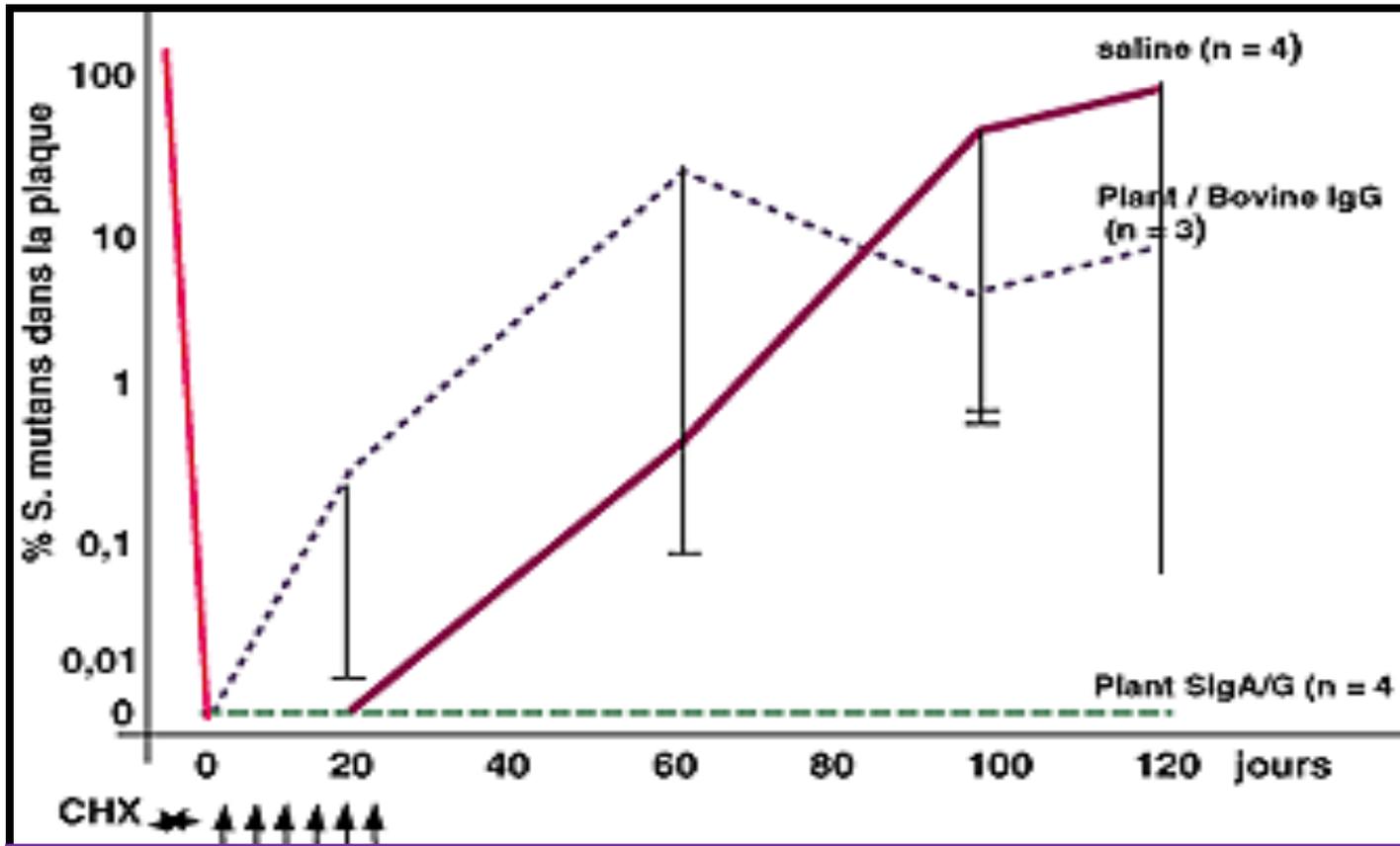


S. mutans produz espesso biofilme que promove anaerobiose construindo ambiente propício para crescimento de bactérias anaeróbias → Cárie



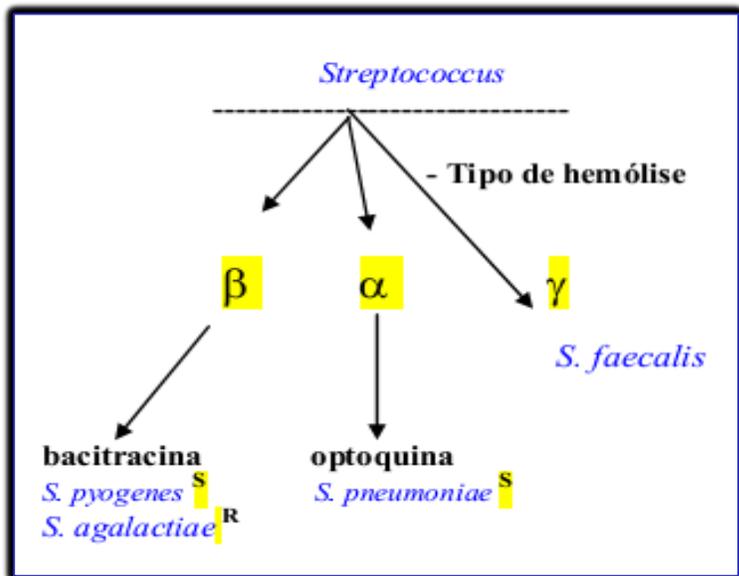
3.4. *Streptococcus mutans*

- Doença – Pesquisa para vacina para combater a a cárie



S. mutans - vacina

3. Principais espécies de *Streptococcus*



Beta-hemolíticos:

Podem ser divididos em Grupos de SOROLÓGICOS (Grupos de Lancefield)

- *S. pyogenes* (Grupo A de Lancefield) - Bacitracina^S
- *S. agalactiae* (Grupo B de Lancefield) - Bacitracina^R

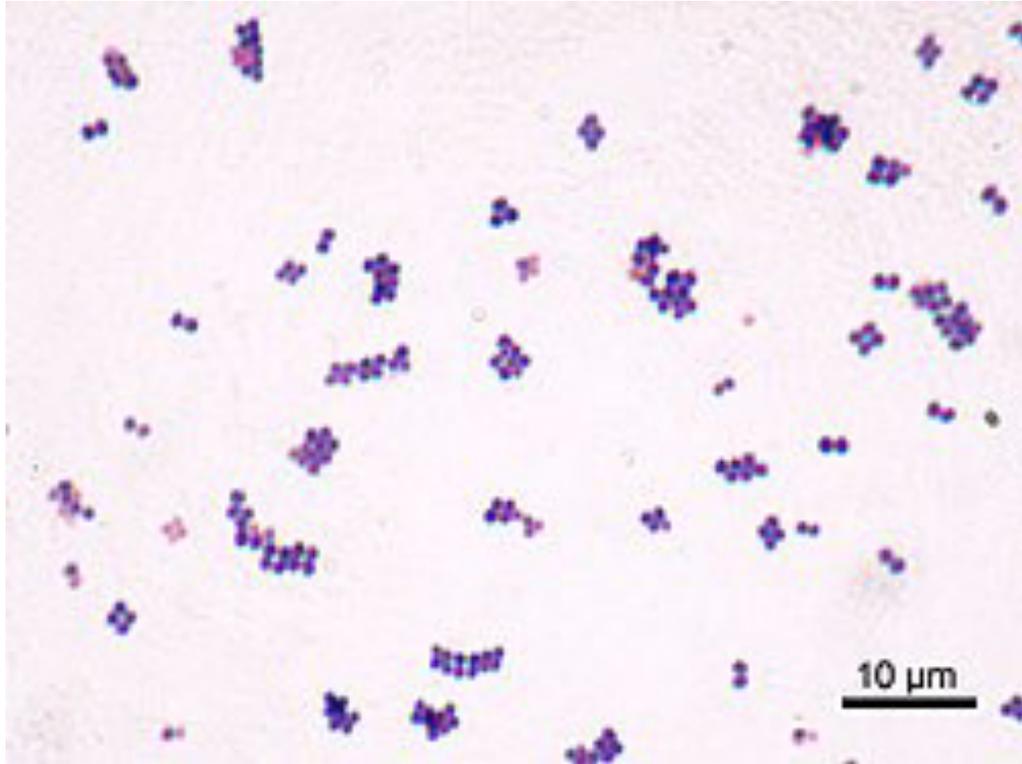
Alfa-hemolíticos:

- *S. pneumoniae* - Optoquina^S
- *S. viridans* (*S. mutans*, *S. salivaris* e outros) - Optoquina^R

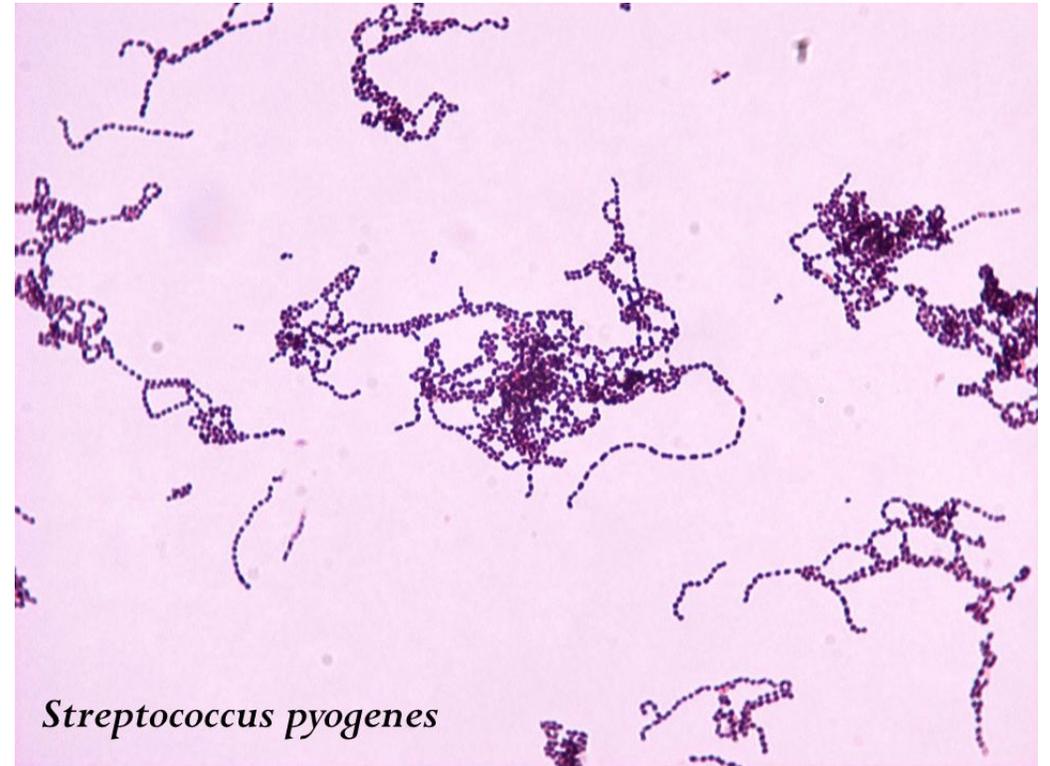
Gama hemolíticos :

- *Enterococcus* (Grupo D de Lancefield)

Cocos Gram-positivos



Staphylococcus



Streptococcus

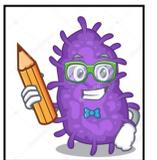
4. Questões para Estudo Revisão do Entendimento



Vamos conferir !

1. A visualização das bactérias coradas pela técnica de Gram é importante para a identificação de bactérias patogênicas? Responda citando um exemplo desta Aula.
2. Como são identificados bactérias do gênero *Streptococcus*? Basta fazer a coloração de Gram para identifica-las?
3. No gênero *Streptococcus* há alguma espécie que causa doença que pode variar de leve a muito grave em humanos? Cite 2 exemplos.
4. Que fatores de virulência estão presentes nos *Streptococcus* que resultam em cepas tão patogênicas?
5. Esta correto afirmar que somente os *Streptococcus* β -hemolíticos são patogênicos para o homem?
6. Como se faz para identificar os *Streptococcus*?
7. Como *Staphylococcus mutans* pode causar doença em humanos?
8. Quais são as principais espécies de *Streptococcus* causadoras de doenças em humanos ?

CGP:
Confira também os
Staphylococcus !



Obrigada!