

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Disciplina de Microbiologia Básica - Integral

INFECÇÕES GASTROINTESTINAIS

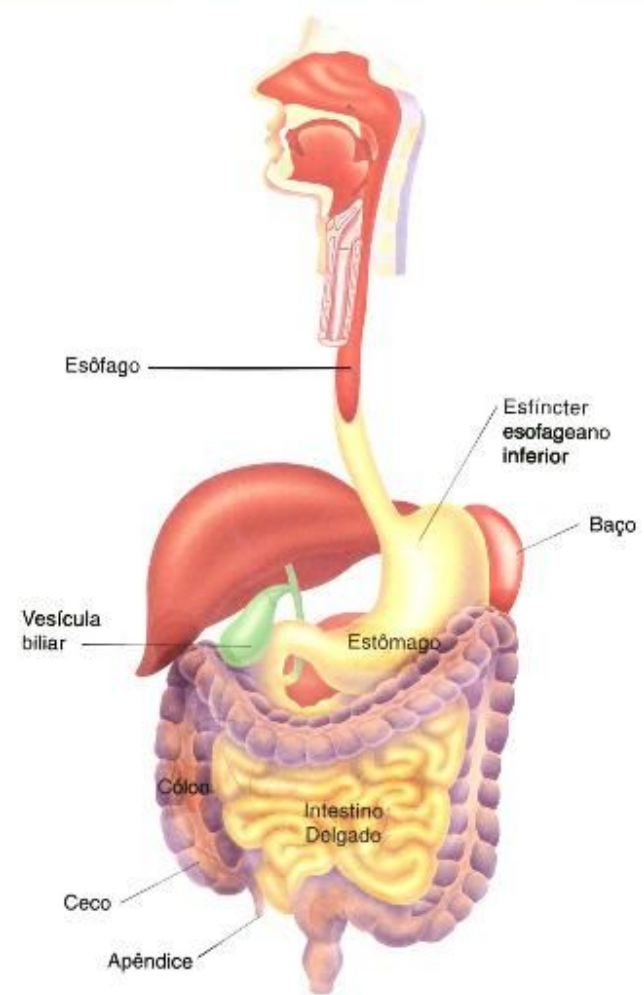
Diarreia e Alimentos Contaminados

André Cruz Amantea
Artur Caminero Gomes Soares
Daniele Ho
Giovanna Girardelli Batista

Isabella Paulino Otvos
Victor Barbosa Tohmé
Willian Maranhão

Trato GastroIntestinal (TGI)

- **Superior:** boca, faringe, esôfago e estômago
- **Inferior:** intestino delgado e intestino grosso
- **Anexos:** fígado, pâncreas, glândulas salivares



Trato GastroIntestinal (TGI)

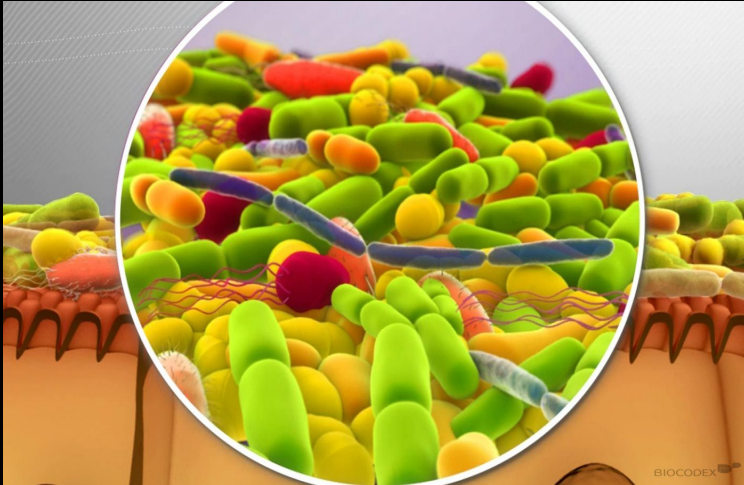


Função:

- **Suprir a digestão dos alimentos**
- **Promover a absorção de água, eletrólitos e nutrientes**
- **Promover a eliminação de resíduo alimentar não digerido, células descamadas e substâncias secretadas na luz do intestino.**

A microbiota intestinal

- N° células microbianas são encontradas ao longo do TGI: 100 trilhões (10^{14})
- Composta de 1.000 a 1.150 espécies diferentes

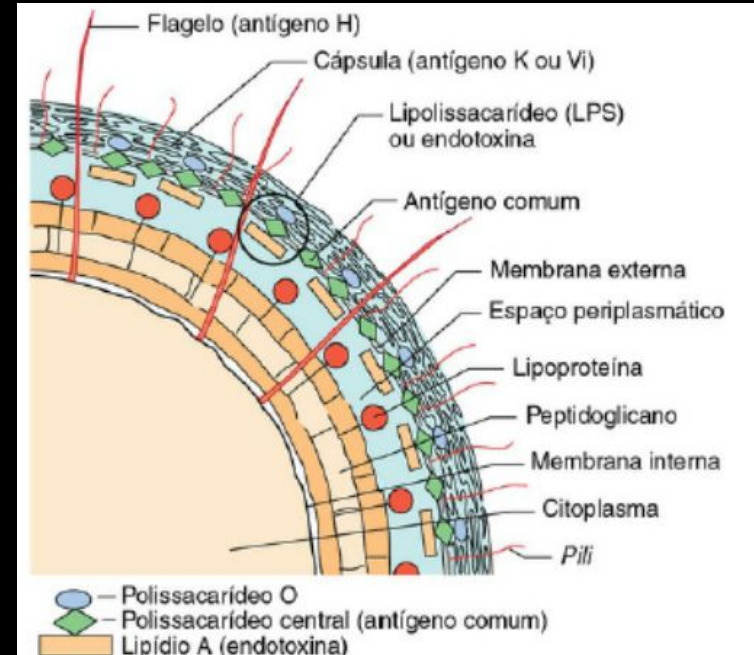


Mutualismo

- Formação de uma barreira sobre o epitélio intestinal
- Metabolização e aquisição de nutrientes e outras substâncias
- Desenvolvimento do sistema imune
- Compete contra bactérias patogênicas por espaço, nutrientes, receptores do hospedeiro

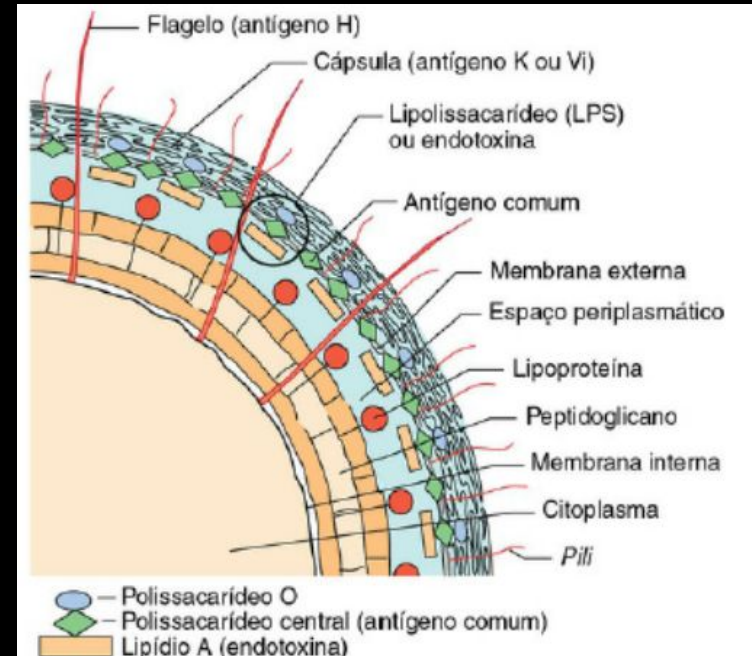
Enterobacteriaceae

- O lipopolissacarídeo (LPS) termoestável é o principal antígeno da parede celular e consiste em três componentes: o polissacarídeo O somático mais externo, um polissacarídeo central comum a todas as *Enterobacteriaceae* (antígeno comum de enterobactéria) e o lipídio A.
- O polissacarídeo central é importante para a classificação do microrganismo como um membro da família *Enterobacteriaceae*; o polissacarídeo O é importante para a classificação epidemiológica das cepas dentro da espécie; e o lipídio A, componente do LPS, é responsável pela atividade endotóxica, um importante fator de virulência.

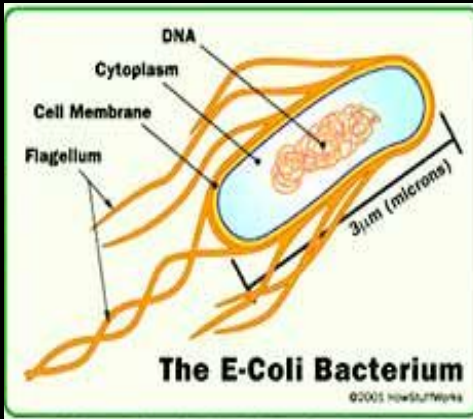


Enterobacteriaceae

- A classificação epidemiológica (sorológica) das *Enterobacteriaceae* se baseia em três principais grupos de antígenos: o **polissacarídeo O** somático, o **antígeno capsular (K)** (polissacarídeos tipo-específicos) e as **proteínas flagelares (H)**.



Escherichia coli

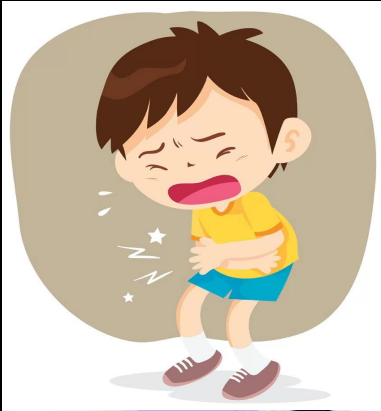


- É uma bactéria **Gram-negativa, mesófila** (temperatura ótima 39°C), **neutrófila** (pH ótimo entre 6 e 7) e **não halófila** (cresce em baixas concentrações de sal).
- Pode ser cultivada em meio Ágar MacConkey, EPM, Mili e Agar Citrato de Simons.
- **A bactéria *E. coli* é encontrada normalmente na microbiota do cólon**, em humanos e outros animais.
- Patogênica: Em imunocomprometidos ou em casos de comprometimento da barreira intestinal epitelial.
- Existem clones de *E. coli* com fatores de virulência que permitem maior adaptação a novos nichos, alterando a composição da microbiota.

Escherichia coli - Relação Mutualística

- **Todo o filo Gammaproteobacteria, do qual *E. coli* faz parte, representa menos de 1% das bactérias intestinais.**
- **Escherichia pode desempenhar um papel nutricional no trato intestinal, pela síntese de vitaminas, particularmente vitamina K. Por sua natureza aeróbia facultativa, esse organismo provavelmente também auxilia no consumo de oxigênio, tornando o intestino grosso anóxico.**
- **Linhagens selvagens de Escherichia raramente apresentam exigências em relação a qualquer fator de crescimento, sendo capazes de crescer a partir de uma grande variedade de fontes de carbono e energia, como açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos e assim por diante.**

Infecções gastrointestinais causadas por *E.coli*



- A maioria das linhagens de *Escherichia coli* não é patogênica (como *Escherichia coli* K-12), sendo membros comuns da microbiota entérica do colo de seres humanos;
- Poucas linhagens são potenciais patógenos, sendo estas linhagens patogênicas agrupadas com base no tipo de toxina que produzem e nas doenças específicas que acarretam (como a linhagem O157:H7 (EHEC));
- Com a ingestão de bactérias patogênicas (ou suas enterotoxinas), estas passam a colonizar o intestino e causar danos ao hospedeiro;

Infecções gastrointestinais causadas por *E.coli*



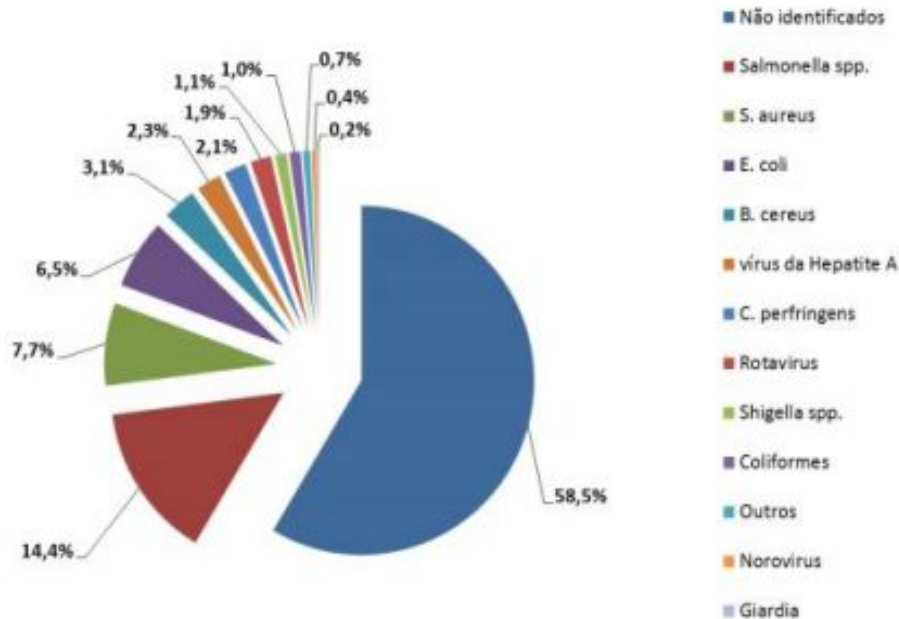
- A transmissão da doença ocorre normalmente pela **rota fecal/oral, por meio de alimentos e água contaminados.**
- Entre os sintomas mais comuns estão a **diarreia** (fezes anormais (líquidas), caracterizada por evacuações frequentes e envolve perda aumentada de fluidos e eletrólitos), **disenteria** (distúrbio inflamatório do TGI associado com sangue e pus nas fezes e acompanhado por sintomas de dor, febre, cólicas abdominais), **náuseas, vômito** e **desconforto abdominal.**

Infecções gastrointestinais causadas por *E.coli*



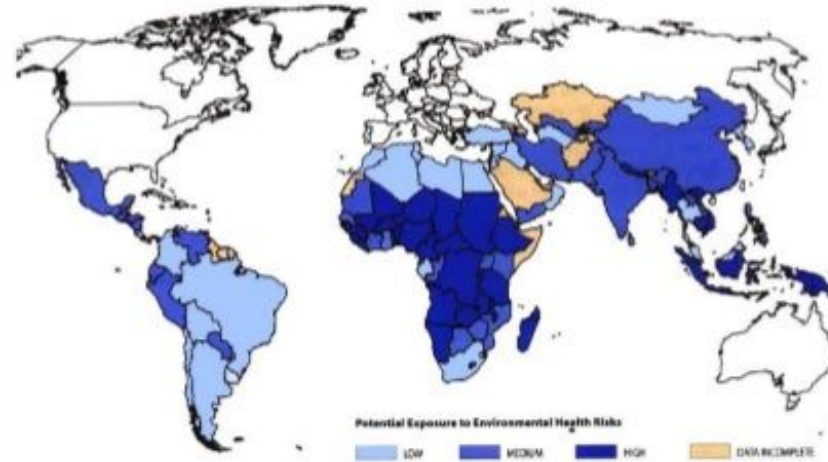
Infecções gastrointestinais causadas por *E.coli*

Agentes etiológicos responsáveis pelos surtos de DTA.
Brasil, 2000 a 2015*.



- As doenças alimentares de origem bacteriana são bastante **subnotificadas** no Brasil!
- As bactérias da família *Enterobacteriaceae* são responsáveis por **95% dos casos das infecções**! A *E. coli*, encontrada em alimentos e água, é indicadora de contaminação fecal.
- A *E. coli* pode causar **5 tipos de infecções diferentes diarreio gênicas**, que diferem no mecanismo de patogenicidade!

EPIDEMIOLOGY

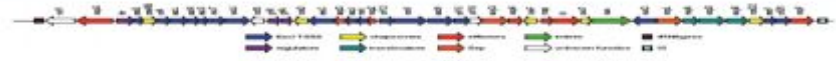


**Áreas em desenvolvimento são as mais afetadas (América do Sul, África e Ásia)
Surto de diarreias são esporádicos e sua incidência é variável em todo mundo,
aflorando em locais com condições sanitárias precárias.**

A diarreia em crianças pode ser severa e prolongada, com elevada percentagem de casos fatais; uma taxa de **50% de letalidade** tem sido relatada nos países em desenvolvimento.



No Brasil a incidência é 30% em crianças pobres abaixo dos 6 meses



Plasmídeos



Phage Stx ϕ



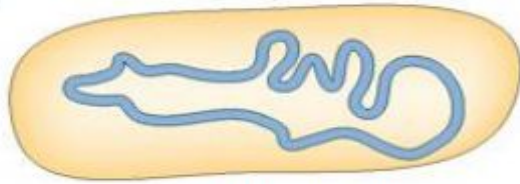
LEE



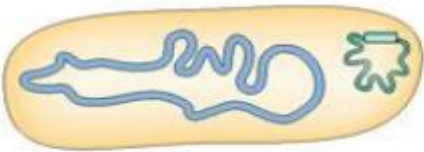
Ilhas de patogenicidade



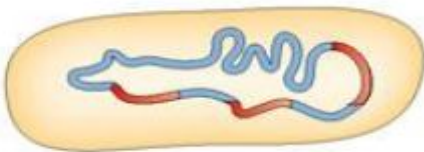
Outras *E. coli*
 -APEC
 -NMEC,
 -STEC, etc



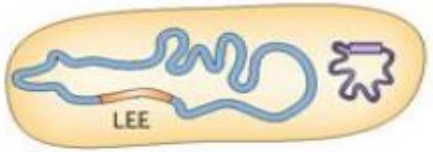
***E. coli* comensal**



(ETEC – Enterotoxigênica *E. coli*)



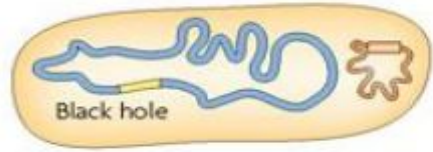
(UPEC-Uropatogênica *E. coli*)



(EPEC – Enteropatogênica *E. coli*)

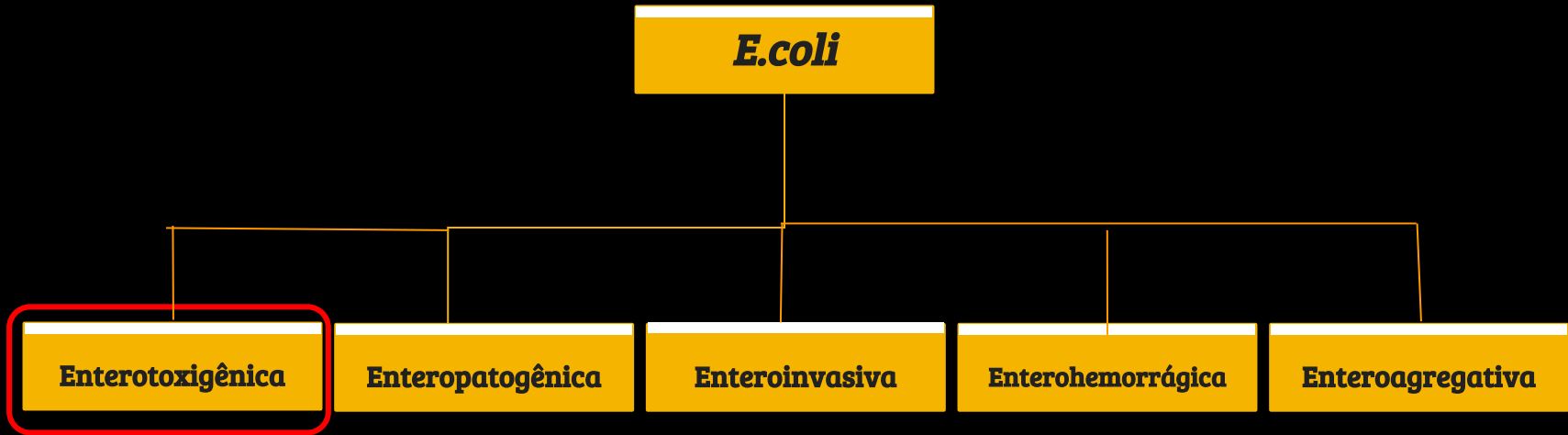


(EHEC – Enterohemorrágica *E. coli*)
 (atualmente já se fala em STEC)



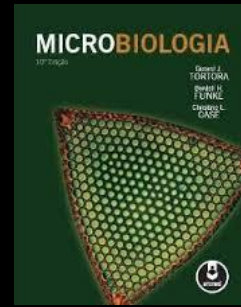
(EIEC – Enteroinvasiva *E. coli*)

Patótipos *Escherichia coli*



E. coli Enterotoxigênica (ETEC)

- **Transmissão:** contaminação oral-fecal
- **Manifestação clínica:** diarreia aquosa, não sanguinolenta, com ou sem febre.
- **Epidemiologia:** diarreia infantil em países em desenvolvimento (subnutridas, desnutridas, lactentes, fatal); causa comum da “diarreia do viajante” (“Viajar expande a mente e relaxa o intestino”, causada também por *Shigella*, *Salmonella*, vírus, protozoários, parasitas), ETEC causa bacteriana mais comum
- **Fator de virulência:** fímbrias (fatores de colonização antigênica) se aderem no epitélio intestinal; produzem enterotoxinas estáveis ao calor (cepas ST, STa e STb) e enterotoxinas sensíveis ao calor (cepas LT, LTI e LTII), não invasiva



Prevenção

DUKORAL[®]

Vacina contra cólera oferece cobertura adicional para *E. coli* enterotoxigênica

Publicado em: 27/05/2008

Por: Fleury Medicina e Saúde

Edição: 2008 - Edição Nº 4 - Boletim

fleury medicina
e saúde



Essa bactéria é a principal responsável pela **diarréia do viajante**.

A cólera é uma doença aguda que se caracteriza por diarréia volumosa e freqüente, capaz de levar o doente rapidamente à desidratação e à morte. As medidas de prevenção contra essa diarréia, que é causada pela ingestão do *Vibrio cholerae*, devem se basear no cuidado com o consumo de água e alimentos em áreas endêmicas e na imunização. Já usada em vários países e aprovada recentemente no Brasil, a vacina contra a doença se compõe de diferentes frações das cepas Inaba e Ogawa do *Vibrio cholerae* e da subunidade B da toxina colérica recombinante. Estudos multicêntricos demonstraram que o produto é 86% eficaz contra a infecção causada pelo vibrião colérico nos primeiros seis meses após a vacinação. Mas a cobertura imunológica não se restringe a essa bactéria. A presença da subunidade B da toxina produz também **proteção cruzada de 67% contra a *Escherichia coli* enterotoxigênica (Etec)** nos três primeiros meses depois da imunização. Há ainda pesquisas que apontam que a vacina apresenta uma eficácia geral de até 25% contra quadros de diarréia em viajantes, população que apresenta alta incidência de contaminação por Etec. A vacina, portanto, funciona como uma opção extra para as pessoas que se deslocam até regiões de alto risco para doenças diarreicas. Contudo, deve ser vista invariavelmente como uma **proteção adicional, que não substitui as demais medidas de prevenção.**

<http://www.fleury.com.br/medicos/educacao-medica/revista-medica/materias/Pages/vacina-contracolera-oferececoberturaadicionalparaecolienterotoxigenica.aspx>

Ask your healthcare professional about

Help prevent ETEC diarrhea with
DUKORAL^{® 1,2}

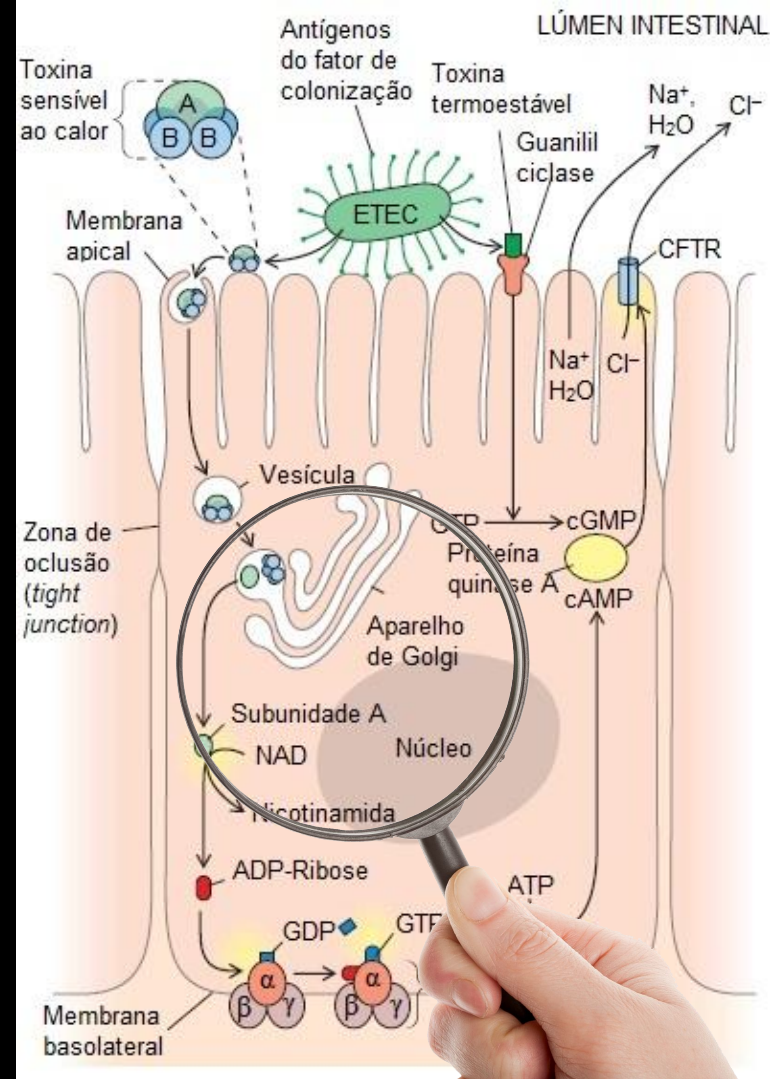
Whatever you're planning, your vacation
is not a good time for enterotoxigenic
E. coli diarrhea.

dukoralcanada.com



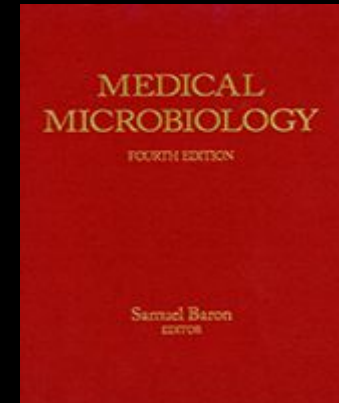
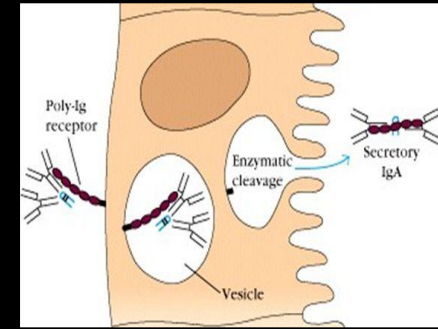
Mecanismo da ETEC

- No lúmen intestinal a ETEC se adere ao epitélio intestinal através da produção de **fatores de colonização (CF)**.
- **Enterotoxinas sensíveis ao calor (LT, heat-Labile enterotoxin)** ativa a adenilato ciclase aumentando cAMP, ativa PKA, fosforila CFTR, libera cloreto.
- **Enterotoxina estável ao calor (ST, heat-stable enterotoxin)** ativa guanilato ciclase aumentando GMP, ativa PKA, fosforila CFTR e libera cloreto.
- A saída excessiva de cloreto favorece a saída de sódio (manter neutralidade) e de água (osmose) para o lúmen intestinal caracterizando a desidratação.

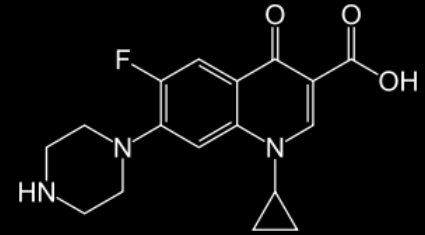


E.coli Enterotoxigênica (ETEC)

- **Defesa inespecífica do organismo:** acidez gástrica (HCl), motilidade do intestino delgado e população da microbiota.
- **Defesa específica:** as informações ainda são superficiais, IgA (mucosas, é passado para o neonato via aleitamento) dirigida contra antígenos da superfície.
- **Controle:** PREVENÇÃO da ETEC (bons hábitos de higiene, saneamento básico, lavar alimentos), amamentação de lactentes (principalmente onde ETEC é endêmico)
- **Tratamento:** reposição de fluidos e eletrólitos por via oral e intravenosa, uma vez instalada a diarreia, o tratamento com antibióticos em casos graves da doença mas deve ser feito com cautela (resistência a antibióticos).

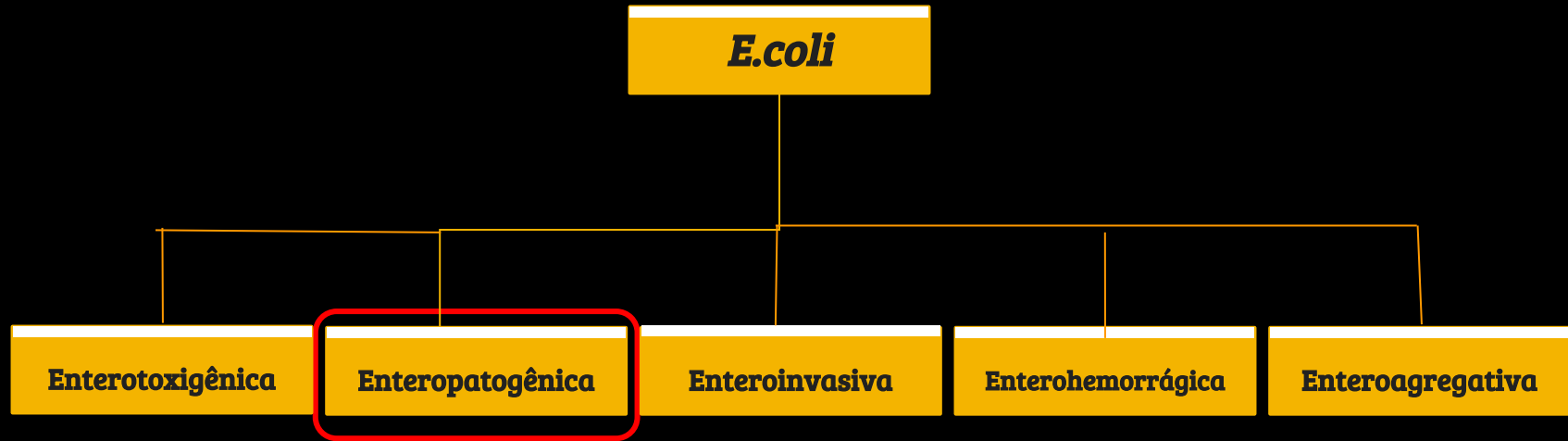


Tratamento



- A maioria das pessoas infectadas se recuperará dentro de alguns dias, sem exigir nenhum tratamento específico.
- As fluoroquinolonas (quinolona de 2ª geração) demonstraram ser uma terapia eficaz.
 - As quinolonas (bactericida) agem na DNA-girase (topoisomerase II)
 - **Tomar antibióticos para prevenir a infecção por ETEC geralmente não é recomendado.** (Resistência a quinolona = alteração na enzima DNA-girase, bomba de efluxo, mudança na permeabilidade)
 - A ETEC é frequentemente resistente a antibióticos comuns, incluindo trimetoprim-sulfametoxazol e ampicilina.

Patótipos *Escherichia coli*



Escherichia coli enteropatogênica (EPEC)

- Inicialmente, todas as cepas de *E. coli* que induzem diarréia foram nomeadas como *E. coli* enteropatogênicas (EPEC).
- Estudos posteriores permitiram que as *E. coli* enteropatogênicas fossem classificadas em diferentes grupos de acordo com seus mecanismos de infecção e fatores de virulência produzidos (Kaper, 1994).

Escherichia coli enteropatogênica (EPEC)

- **Fator de virulência:** Fímbrias formadoras de feixes, com efeito de fixação e ofuscamento (BfpA (EAF+), EspB...)
- **Mecanismo:** Possuem plasmídeos com genes que codificam um fator de aderência (adesão à mucosa intestinal) e depois de aderida a bactéria destrói as microvilosidades.

Mecanismo da EPEC

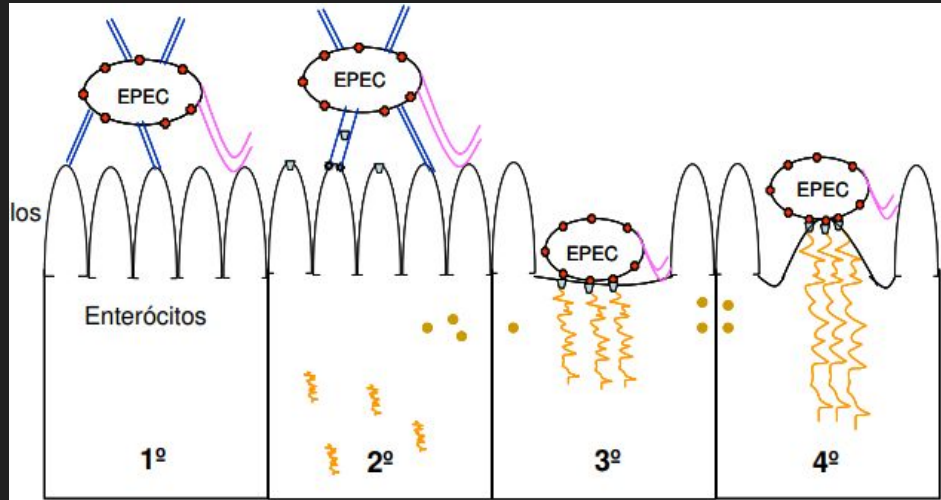


FIGURA 1: Modelo de 4 estágios da patogênese de EPEC. Adaptada de (Clarke *et al.*, 2003).



1- EPEC expressa em sua superfície as adesinas BfpA (Subunidade A dos pili formadores de feixe de EPEC), a adesina intimina e filamentos curtos de EspA (Proteína A secretada de EPEC).

2- As células bacterianas se aderem ao epitélio intestinal através dos filamentos de BfpA e EspA, e o sistema de secreção do tipo III transloca Tir (receptor translocado de intimina) e outras proteínas efetoras para o citoplasma.

As proteínas efetoras ativam vias de sinalização que levam a alteração do citoesqueleto e perda das microvilosidades locais.

Mecanismo da EPEC

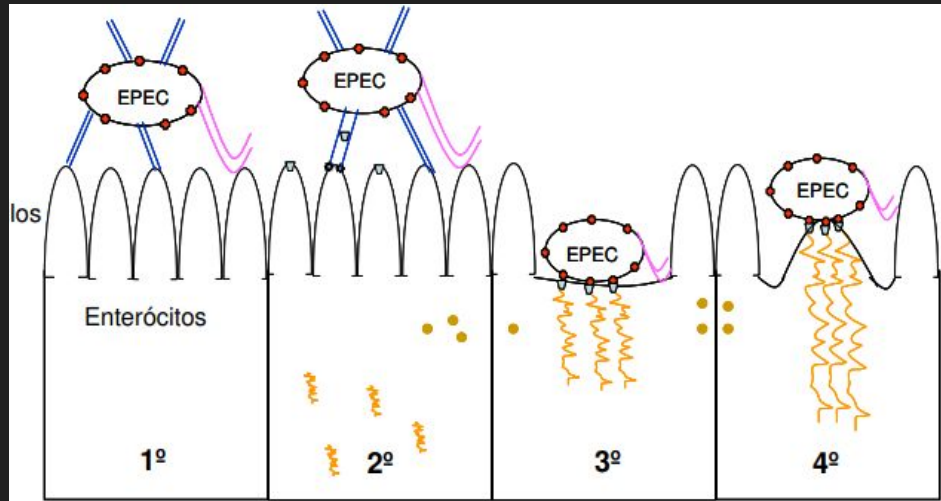
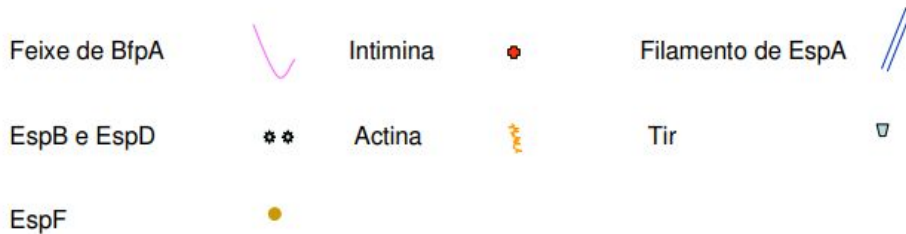


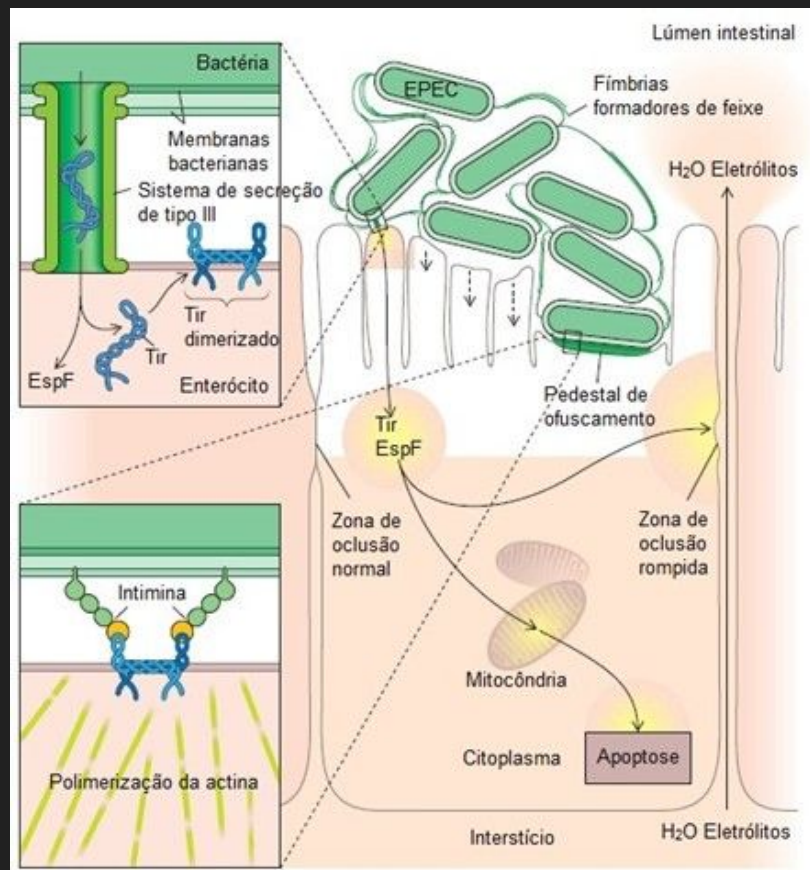
FIGURA 1: Modelo de 4 estágios da patogênese de EPEC. Adaptada de (Clarke *et al.*, 2003).



3- Os filamentos de EspA são perdidos da superfície bacteriana, a intimina se liga ao Tir resultando na ligação íntima, com acúmulo de actina na interface com a bactéria. Na última fase, ocorre a formação do pedestal típico da lesão de adesão e desvanecimento (A/E) causada pela grande quantidade de elementos do citoesqueleto no local da adesão por EPEC.

4- Ao final, esse processo leva a perda eletrolítica e eventual morte celular

Mecanismo da EPEC



EPEC

Defesas

Defesa específica:

Resposta imune contra EPEC e EHEC é detectada no leite de lactantes com a presença de altos níveis de anticorpos IgA contra as proteínas EspA, EspB, intimina e BfpA.

Também foram detectados, no soro de crianças, altos níveis de anticorpos IgG anti-EspA, EspB, intimina, BfpA e Tir. Anticorpos anti-BfpA e anti-EspB também foram encontrados em fezes de crianças

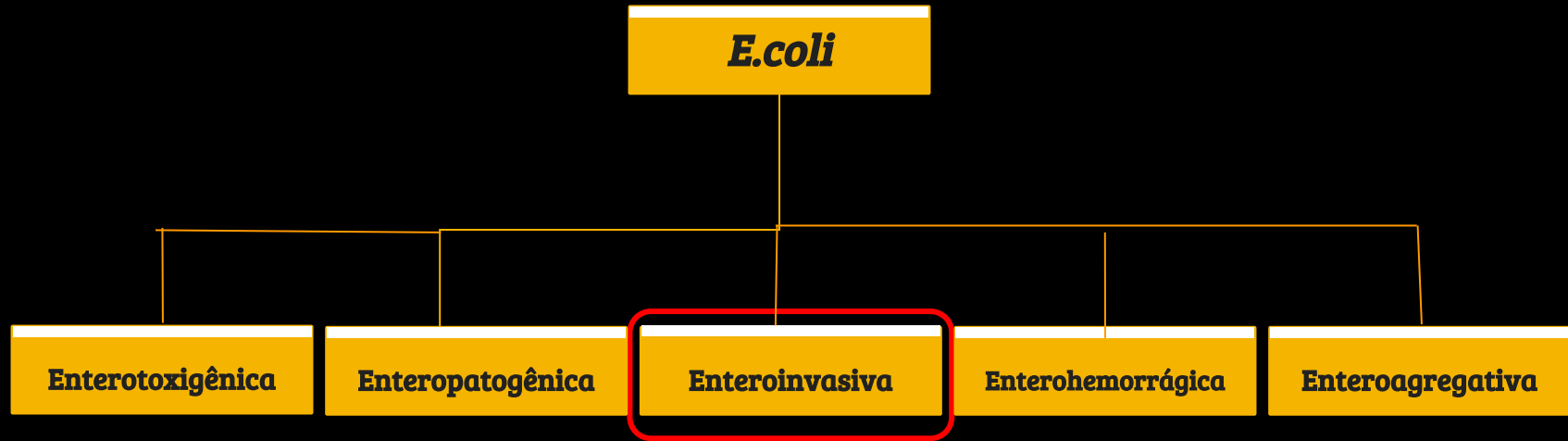
EPEC

O que fazer?

Controle:

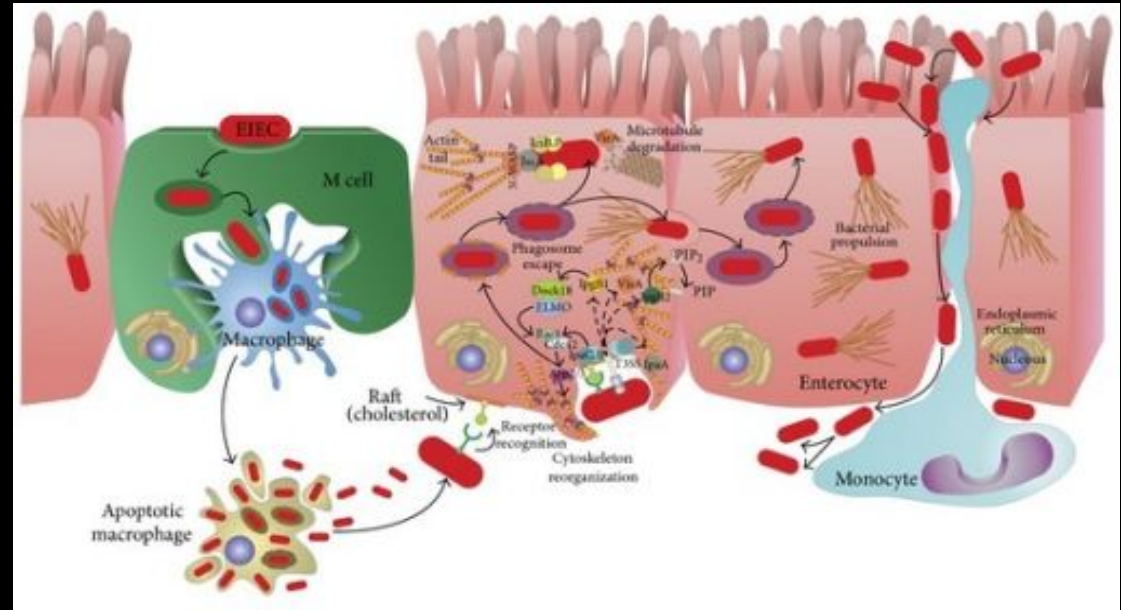
- Notificação de Surto
- Encorajamento de mães a amamentarem seus filhos até 6 meses de idade
- Orientações quanto ao preparo e higiene rigorosa de mamadeiras e outras refeições
- Lavagem rigorosa das mãos
- Cuidados com equipamentos como termômetros nos centros médicos e maternidades
- Cuidados com a água do banho do bebê...

Patótipos *Escherichia coli*

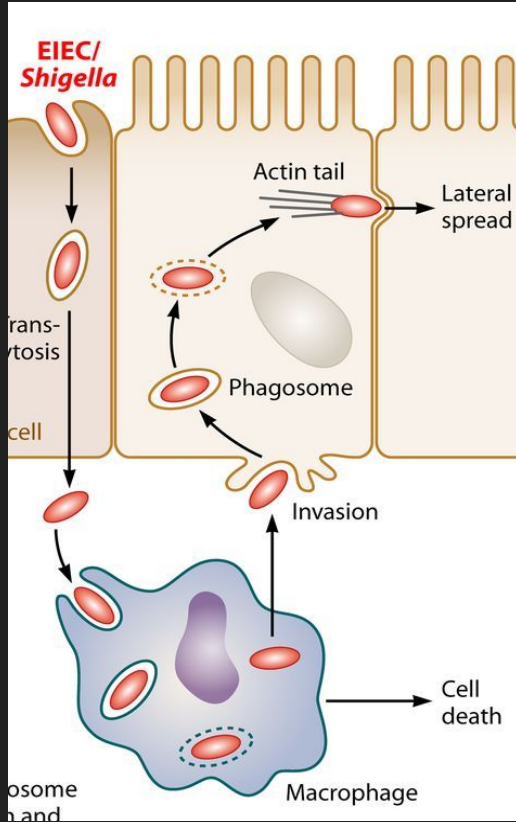


Escherichia coli Enteroinvasiva (EIEC)

- Semelhante à *Shigella* ssp.
- **Sintomas:** colite inflamatória, diarreia aquosa, febre, mal estar, semelhante a ETEC
- **Penetra pela célula M do intestino**
- **Apoptose do macrófago**
- **Invasão pela membrana basolateral da célula epitelial**



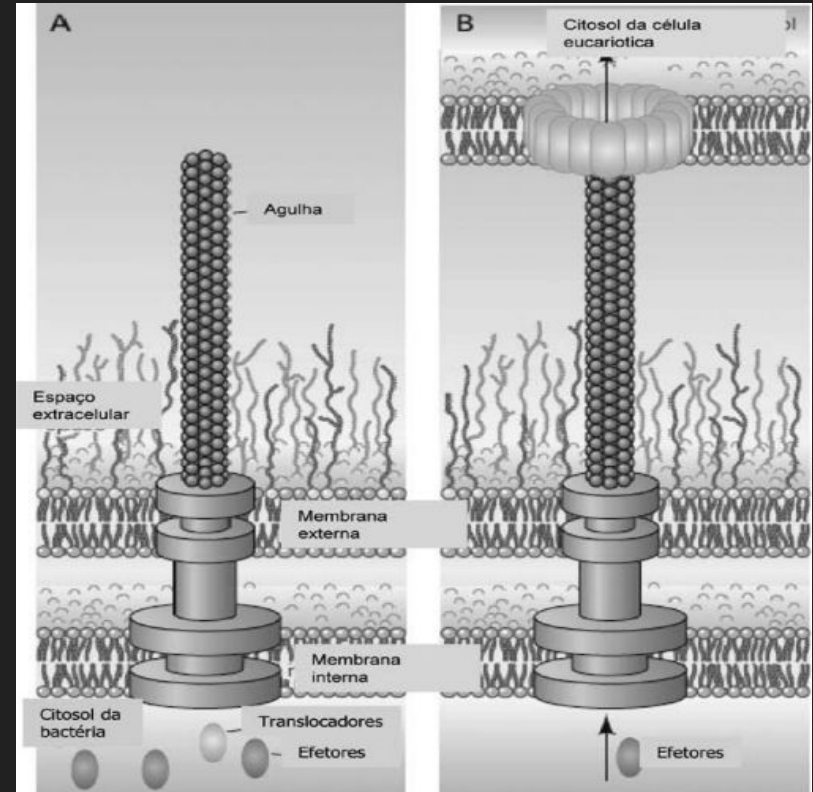
Mecanismo da EIEC



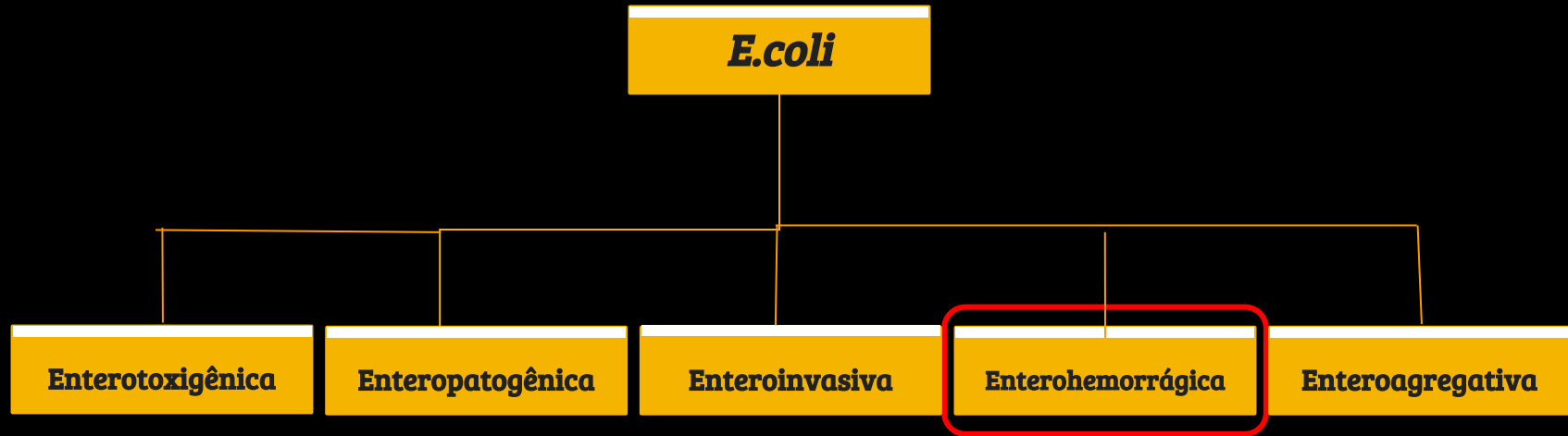
- ◆ **Invadem enterócitos** por endocitose, seguida de lise do endossomo.
- ◆ **Multiplicação intracelular**
- ◆ **Movimentação dentro do citoplasma**, mediado pela nucleação com actina celular (polimeriza em um só sentido), com formação de protusões, **em direção à célula epitelial adjacente**
- ◆ Possui um **plasmídeo de virulência** que codifica um sistema de secreção de tipo III e uma **proteína de membrana externa de 120 kDa chamada IcsA**, que induz a polimerização da actina e forma protusões.

Escherichia coli enteroinvasiva (EIEC)

- Este **sistema de secreção de tipo III** secreta múltiplas proteínas, como **IpaA, IpaB, IpaC e IpgD**, que medeiam os eventos de sinalização epitelial, rearranjos do citoesqueleto, absorção celular, lise de vacuolo endocítico, etc.
- Aerobactina: captação de ferro
- Diagnóstico: PCR (plasmídeo)
- Tratamento: Reidratação, com reposição de sais

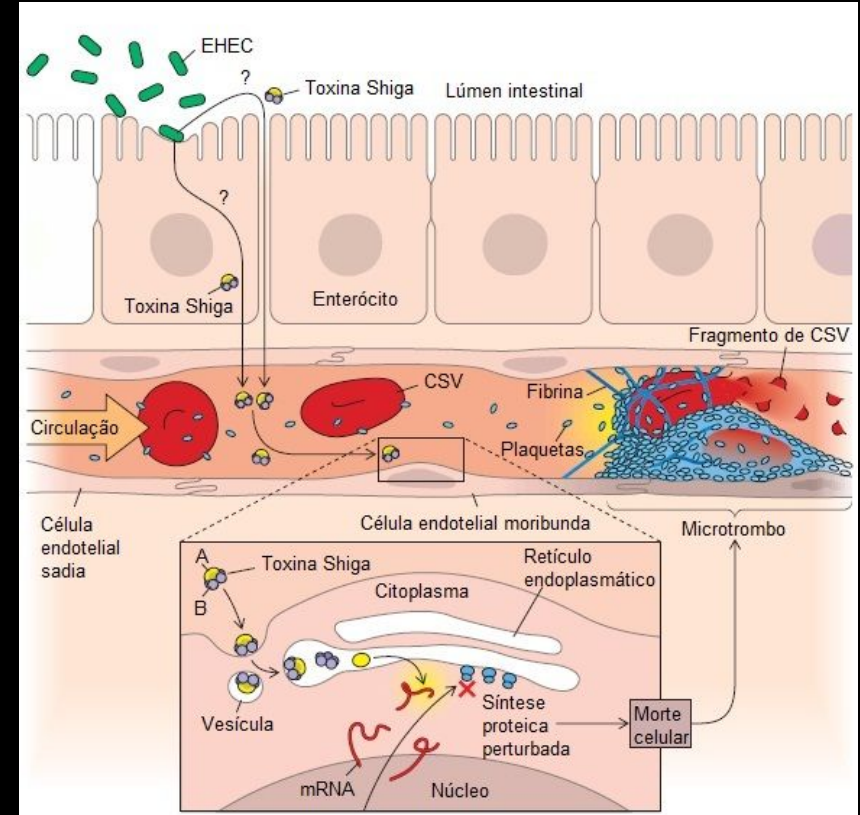


Patótipos *Escherichia coli*



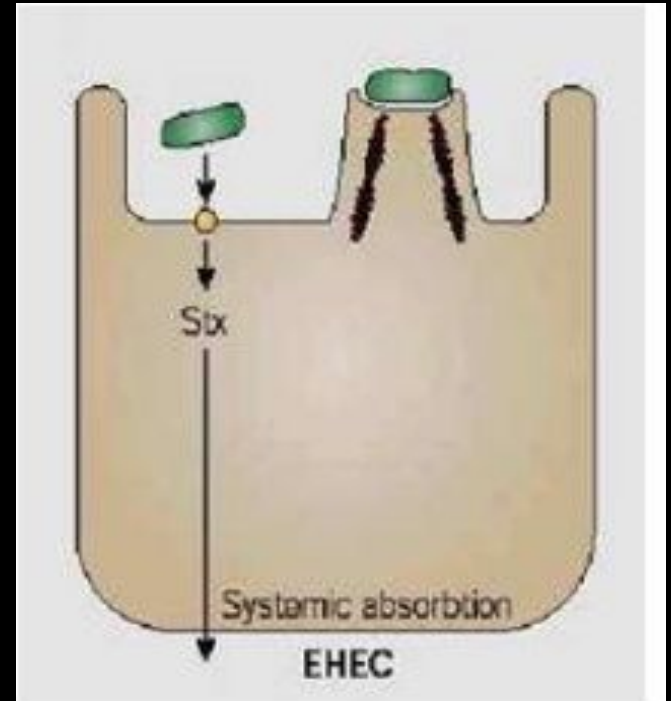
Escherichia coli Enterohemorrágicas (EHEC)

- Linhagem de *Escherichia coli* produtoras de toxina Shiga (STEC) também produzem verotoxina, uma enterotoxina similar à produzida por *Shigella dysenteriae*;
- A STEC mais amplamente distribuída é a *E. coli* O157:H7;
- Essas cepas representam clones que evoluíram da EPEC e que expressam o fator A/E (lesão *attachment-effacement*). Também adquiriram a toxina Shiga (Stx-1, Stx-2 ou ambas);



***Escherichia coli* Enterohemorrágicas (EHEC)**

- As cepas EHEC que produzem as duas toxinas Shiga e lesão A/E são mais patogênicas que as cepas que produzem apenas uma toxina Shiga;
- SHU tem sido associada à produção de Stx-2, que é capaz de destruir as células endoteliais do glomérulo. Os danos às células endoteliais levam à ativação de plaquetas e à deposição de trombina, que por sua vez resultam na diminuição da filtração glomerular e falha renal aguda;



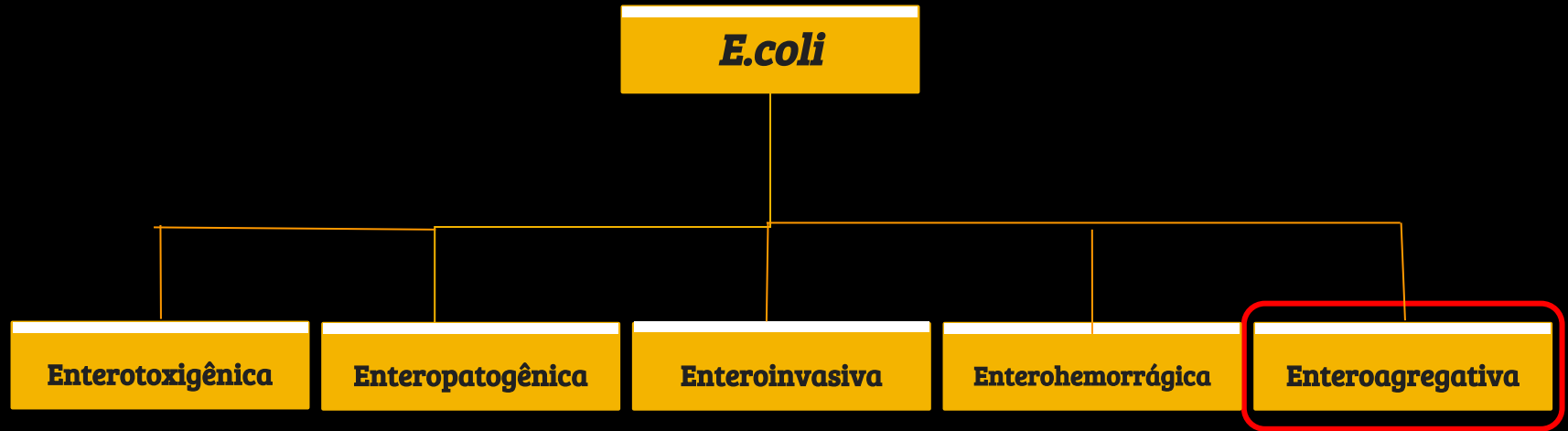
***Escherichia coli* Enterohemorrágicas (EHEC)**

- **As toxinas Shiga também estimulam a expressão de citocinas inflamatórias (p. ex., fator de necrose tumoral- γ [TNF]- γ , interleucina-6 [IL]-6);**
- **Contaminação: Ingestão de alimento ou água contaminados com STEC;**
- **Patogenicidade: Infecção do intestino delgado, onde se desenvolve e produz verotoxina;**
- **Sintomas: diarreia aquosa inicial seguida de diarreia sanguinolenta (colite hemorrágica) com cólicas abdominais; pouca ou nenhuma febre; pode progredir para a síndrome hemolítico-urêmica (SHU);**

***Escherichia coli* Enterohemorrágicas (EHEC)**

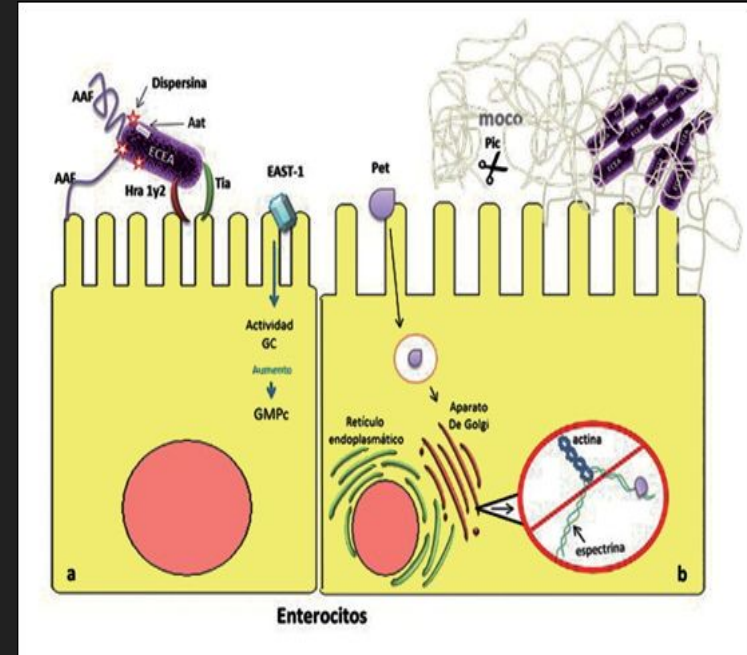
- **Tratamento:** Reside fundamentalmente na reposição hidroeletrólítica, oral ou endovenosa, dependendo do quadro de desidratação apresentado pelo doente.
- **O uso de antibióticos não é recomendado no caso de infecção por EHEC. Em casos mais graves, como na SHU, pode ser necessário recorrer a tratamentos como hemodiálise.**
- **Prevenção:** Aplicação de boas práticas com o objetivo de reduzir a contaminação fecal ao longo da cadeia alimentar.

Patótipos *Escherichia coli*



Escherichia coli Enteroagregativa (EAEC)

- As bactérias são caracterizadas pela autoaglutinação, como em um arranjo de “tijolos empilhados”;
- O processo é mediado pela fímbria de aderência agregativa I (AAF/I), adesinas semelhantes ao PFF responsável pela formação de microcolônias de EPEC. Também foram descritas outras fímbrias de aderência agregativa (AAF/II, AAF/III).
- Após aderência de EAEC à superfície do intestino, a secreção de muco é estimulada, levando à formação de um biofilme espesso. Esse processo protege as bactérias agregadas dos antibióticos e de células fagocíticas.



***Escherichia coli* Enteroagregativa (EAEC)**

- **Dois grupos de toxinas estão associados a EAEC: a toxina enteroagregativa termoestável, que é antigenicamente relacionada à toxina termoestável de ETEC; e a toxina codificada por plasmídeo (Pet). Ambas as toxinas induzem secreção de fluidos;**
- **Pacientes infectados manifestam inflamação intestinal, marcado pela presença de lactoferrina fecal e citocinas pró-inflamatórias, notadamente interleucina-8 (IL-8).**
- **Sintomas: Diarreia aquosa persistente com desidratação; É uma bactéria associada a diarreia crônica e retardo do crescimento em crianças.**

Referências

BROOKS, G. F.; CARROLL, K. C.; MORSE, S. A.; MIETZNER, T. *Microbiologia Médica: de Jawetz, Melnick e Adelberg*. 26 ed. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda. 2014.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia..* 10 ed. São Paulo: Artmed Editora S.A. 2012.

AZEVEDO, A. Bactérias associadas a infecções gastrointestinais. Rio de Janeiro, 2017. UFRJ. Disponível em: <

<http://www.ufjf.br/microbiologia/files/2013/05/Bact%C3%A9rias-associadas-%C3%A0s-infec%C3%A7%C3%B5es-gastrointestinais.pdf>>

TIMENETSKY, J; BARBIERI, BD. Glossário de Bactérias com Importância Médica. São Paulo, 2017. ICB- USP. Disponível em: <

http://www.icb.usp.br/bmm/ext/index.php?option=com_content&view=article&id=113&lang=br>

Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo Centro de Vigilância Epidemiológica - CVE

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

Referências

FARFAN-GARCIA, Ana Elvira et al . Mecanismos de virulencia de Escherichia coli enteropatógena. Rev. chil. infectol., Santiago , v. 33, n. 4, p. 438-450, agosto 2016 . Disponível em <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182016000400009&lng=es&nrm=iso>. Acessado em out. 2017.

MADIGAN, M. T., et. al. *Microbiologia de Brock*. Tradução : Alice Freitas Versiani ... [et al.] 14ª Ed. Porto Alegre : Artmed, 2016.